

Beata Fiecek<sup>1</sup>, Aneta Grochowalska<sup>2</sup>, Tomasz Chmielewski<sup>1</sup>, Stanisława Tylewska –Wierzbanowska<sup>1</sup>

## ZAKAŻENIA *LEPTOSPIRA SPP.* I *COXIELLA BURNETII* WYSTĘPUJĄCE W POWIECIE RADOMSKIM U LUDZI Z WYBRANYCH GRUP ZAWODOWYCH

### *LEPTOSPIRA SPP.* AND *COXIELLA BURNETII* INFECTIONS OCCURRING IN RADOMSKIE DISTRICT IN PEOPLE OF SELECTED PROFESSIONAL GROUPS

<sup>1</sup>Samodzielna Pracownia Riketsji, Chlamydii i Krętków Odzwierzęcych, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego - Państwowy Zakład Higieny w Warszawie

<sup>2</sup>Laboratorium Mikrobiologiczne w Radomskim Szpitalu Specjalistycznym im. dr Tytusa Chałubińskiego

#### STRESZCZENIE

**WSTĘP.** Leptospiroza i gorączka Q są to choroby odzwierzęce mające zasięg globalny. Wywołują je różne gatunki bakterii z rodzaju *Leptospira* oraz *Coxiella burnetii*.

**CELPRACY.** Celem niniejszej pracy było określenie częstości występowania zakażeń *Leptospira spp.* i *C. burnetii* u ludzi w powiecie radomskim, którzy ze względu na wykonywaną pracę są narażeni na kontakt ze zwierzętami będącymi rezerwuarem wyżej wymienionych bakterii lub przebywają w środowisku potencjalnie zanieczyszczonym tymi bakteriami.

**MATERIAŁ I METODY.** Zbadano łącznie 177 próbek krwi: 134 próbki krwi pochodzące od lekarzy weterynarii, hodowców bydła oraz pracowników zakładu gospodarki komunalnej zajmujących się wywozem śmieci. Grupę kontrolną stanowiły 43 próbki krwi pochodzące od krwiodawców. Do wykrywania swoistych przeciwciał dla *Leptospira spp.* klasy IgM i IgG zastosowano metodę immunoenzymatyczną - ELISA, a do wykrywania swoistych przeciwciał dla *C. burnetii* klasy IgG zastosowano metodę immunofluorescencji pośredniej (IFA). DNA *Leptospira sp.* i *C. burnetii* wykrywano metodą PCR, stosując odpowiednie pary starterów.

**WYNIKI.** Swoiste przeciwciała klasy IgG dla antygenów *C. burnetii* fazy II wykryto w surowicy krwi u 4,4 % hodowców i lekarzy weterynarii oraz u 12% pracowników gospodarki komunalnej. U krwiodawców przeciwciał nie stwierdzono. Przeciwciała dla *Leptospira spp.* obecne były w surowicy krwi u 23,6 % hodowców i weterynarzy, u 26,2 % pracowników gospodarki komunalnej oraz 14% dawców krwi. DNA *C. burnetii* wykryto w jednej próbce pochodzącej od weterynarza (1,1%). Przeciwciał w niej nie stwierdzono. DNA *Leptospira spp.* w badanym materiale nie wykryto. U hodowców zwierząt (świń i bydła), weterynarzy oraz pracowników zakładu oczyszczania miasta zajmujących się usuwaniem nieczystości stałych, wykazano częstszą obecność przeciwciał dla antygenów *Leptospira spp.* oraz *C. burnetii* w stosunku do grupy kontrolnej (krwiodawcy).

**WNIOSKI.** Oprócz hodowców zwierząt (świń i bydła), weterynarzy, również pracowników zakładów oczyszczania miasta zajmujących się wywozem nieczystości stałych, należy zaliczyć do grupy zwiększonego ryzyka zachorowania na leptospirozę i gorączkę Q.

Zarówno leptospiroza jak i gorączka Q powinny być brane pod uwagę w diagnostyce różnicowej, w przypadku osób z objawami grypopodobnymi mających kontakt ze zwierzętami lub materiałami pochodzenia zwierzęcego.

**SŁOWA KLUCZOWE:** *Leptospira spp.*, leptospiroza, *Coxiella burnetii*, gorączka Q, zakażenia

#### ABSTRACT

**INTRODUCTION.** Leptospirosis and Q fever are a zoonotic diseases with global occurring.

**OBJECTIVES.** The aim of this study was to determine the prevalence of *Leptospira spp.* and *C. burnetii* in

humans, who have contacts with infected animals or are exposed to an environment potentially contaminated with these bacteria.

**MATERIAL AND METHODS.** Blood serum samples originating from 177 veterinarians and farmers and 134 garbage collectors (blood samples) were examined. Control group consisted 43 blood samples derived from blood donors. For the detection of specific IgM and IgG antibodies of *Leptospira* spp., enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used. Indirect immunofluorescence method (IFA) was used for detection of specific IgG *C. burnetii* antibodies. DNA of *Leptospira* spp. and *C. burnetii* was detected by PCR method with appropriate pairs of primers.

**RESULTS.** Specific IgG *C. burnetii* antibodies of phase II were detected in sera of 4.4% of the farmers and veterinarians, and in 12% of garbage men. Antibodies in blood donors was not found. Antibodies of *Leptospira* spp. were present in the serum of 23.6% of farmers and veterinarians, 26.2% of garbage men and 14% of blood donors. *C. burnetii* DNA was detected in one sample derived from the veterinarian (1.1%). *Leptospira* spp. DNA was not detected in tested material. Blood samples from farmers, veterinarians and garbage collectors showed the higher prevalence of antibodies of *Leptospira* spp. and *C. burnetii* as compared to the control group (blood donors).

**CONCLUSIONS.** Beside farmers and veterinarians, garbage collectors should be consider as high risk group of contracting leptospirosis and Q fever. Both leptospirosis as well as Q fever should be considered in the differential diagnosis in humans with animals and animals' material contact when they reveal flu-like symptoms.

**KEY WORDS:** *Leptospira* spp., *Coxiella burnetii* infections, leptospirosis, Q fever

## WSTĘP

Leptospiroza i gorączka Q występujące na całym świecie choroby odzwierzęce są wywoływane przez różne gatunki bakterii z rodzaju *Leptospira* oraz *Coxiella burnetii*. Rezerwuarem tych drobnoustrojów są między innymi zwierzęta hodowlane i w związku z tym hodowcy, np. świn i bydła należą do grupy zwiększonego ryzyka zakażenia.

*Leptospira* spp. są to Gram-ujemne, bezwzględnie tlenowe krętki. Gatunkiem wysoce patogennym jest *Leptospira interrogans* w obrębie, którego wyróżnia się około 200 serotypów, a także *Leptospira kirschneri*, *Leptospira santarosai*, *Leptospira weilii*, *Leptospira alexanderi*, *Leptospira borgpetersenii*, oraz *Leptospira noguchii*. Bakterie te wywołują zachorowanie na leptospirozę, zarówno zwierząt dzikich i domowych jak i ludzi. Podstawowym rezerwuarem tych bakterii i źródłem zakażenia ludzi są szczury i inne gryzonie. *Leptospira* spp. wydalana jest z moczem, dlatego głównym nośnikiem zakażenia są woda i gleba oraz rośliny zanieczyszczone moczem zakażonych zwierząt (1).

U zwierząt, zakażenie *Leptospira* spp. zwykle przebiega bezobjawowo, jednak zwierzęta niewykazujące żadnych objawów chorobowych mogą wydalac bakterie z moczem. Do zakażenia ludzi dochodzi poprzez uszkodzoną skórę, błony śluzowe, spojówki, inhalację lub przez spożycie bakterii, rzadziej przez ugryzienie przez zakażone zwierzę. Z człowieka na człowieka zakażenie może się przenosić przez łożysko, mleko matki lub kontakty seksualne.

Do grupy ludzi o zwiększonym ryzyku zachorowania na leptospirozę należą: hodowcy zwierząt (świn,

kóz, owiec, bydła), pracownicy rzeźni, weterynarze, rolnicy, górnicy, ogrodnicy, pracownicy gospodarki komunalnej, rybacy oraz osoby związane ze sportami wodnymi i ekstremalnymi (2).

W Polsce, w 2010 roku zbadano 7112 surowic pobranych od świń pochodzących ze wszystkich 16 województw. Zbadano je metodą ELISA uzyskując 73 (1,02%) wyniki dodatnie, 85 (1,20%) wyników wątpliwie dodatnich oraz 6954 wyników ujemnych. Stosując test aglutynacji mikroskopowej (MAT) stwierdzono wynik dodatni w 64 (0,9 %) surowicach (3). Natomiast w 2011 roku, wyniki badań dotyczące rozpowszechnienia zakażeń *Leptospira* spp. wśród kóz w Polsce wykazały, że w 49 zbadanych stadach przeciwciała dla *Leptospira* spp. stwierdzono u 89,8% kóz, w tym u 40,3% kóz wykryte miana przeciwciał były wysokie ( $\geq 400$ ). Sugerowało to świeże zakażenie, chociaż zwierzęta nie wykazywały żadnych objawów choroby.

W związku z tymi doniesieniami, obecność *Leptospira* spp. wśród zwierząt w Polsce została potwierdzona, a prawdopodobieństwo, że osoby mające kontakt ze zwierzętami mogą być zakażone *Leptospira* spp. jest bardzo duże i wymaga dalszych badań.

Gorączka Q jest zoonozą wywoływaną przez *C. burnetii*, której rezerwuarem są między innymi zwierzęta hodowlane, takie jak: bydło, owce, kozy (przeżuwacze – główne źródło zakażeń u ludzi) oraz zwierzęta domowe: psy i koty. Choroba ta może być przenoszona także przez kleszcze. Do zakażenia dochodzi poprzez kontakt z kałem, moczem, mlekiem, wodami płodowymi oraz mięsem i wełną zakażonych zwierząt. Zakażenie następuje głównie drogą wziewną, może również nastąpić drogą pokarmową lub przez przerwanie ciągłości tkanek (4).

Grupy osób zawodowo narażonych na zakażenie to: hodowcy bydła, owiec i kóz, pracownicy rzeźni, mleczarni, przetwórci mięsa, personel weterynaryjny, pracownicy garbarni oraz związani z handlem skórą.

W Polsce w 2005 r. zbadano w kierunku gorączki Q surowice 98 kóz, pochodzących z jednego stada, u których wystąpiły przedwczesne porody lub obumarcia płodów. Wykazano, że 79,6% badanych próbek było serologicznie dodatnich w wysokich mianach. Świadczy to o wrażliwości tych zwierząt na zakażenia *C. burnetii* oraz o możliwości szerzenia się zakażenia wśród ludzi kontaktujących się z tymi zwierzętami lub przebywających w ich otoczeniu (5).

Pierwsze ognisko gorączki Q w Polsce wykryto w 1956 r. w Owczarach koło Gorlic (południowo-wschodnia Polska). W kwietniu i maju podejrzenie zakażenia stwierdzono u 63 osób, a w 35 przypadkach rozpoznanie potwierdzono badaniem serologicznym. Dochodzenie epidemiologiczne wykazało, że źródłem zakażenia były owce ze stada importowanego z Rumunii (10). Od 1956 r. do 2010 r. opisano w Polsce kilkanaście ognisk gorączki Q wśród ludzi (6-9). Obserwowane były dwa źródła ognisk gorączki Q: import zakażonych zwierząt lub ich produktów i zakażenia rodzime. Badania przeprowadzone w kolejnych ogniskach wskazują, że głównym źródłem zakażenia ludzi jest bydło.

Celem niniejszej pracy jest określenie częstości występowania zakażeń *Leptospira* spp. i *C. burnetii* u ludzi, którzy ze względu na wykonywaną pracę są narażeni na kontakt ze zwierzętami będącymi rezerwuarem tych bakterii, bądź przebywają w środowisku potencjalnie zanieczyszczonym tymi drobnoustrojami.

## MATERIAŁ I METODY

Materiałem badanym były próbki krwi pobrane od lekarzy weterynarii, hodowców bydła z powiatu radomskiego oraz pracowników zakładu gospodarki komunalnej zajmujących się wywozem nieczystości stałych na terenie Radomia. Jako grupę kontrolną zbadano próbki krwi pochodzące od krwiodawców z tego samego terenu.

## BADANIA SEROLOGICZNE

1. Wykrywanie swoistych przeciwciał dla *C. burnetii* klasy IgG wykonano metodą IFA stosując zestaw *Coxiella burnetii* I+II IFA IgG/IgM/IgA firmy VIRCELL Microbiologists (Hiszpania). Antygenem diagnostycznym był szczep Nine Mile, ATCC 616-VR *C. burnetii*. Badanie wykonywano zgodnie z procedurą podaną przez producenta.

Miano przeciwciał klasy IgG z antygenami fazy I i II  $\geq 64$  przyjmowano jako wynik dodatni.

2. Wykrywanie swoistych przeciwciał dla *Leptospira* spp. klasy IgM i IgG wykonano metodą immunoenzymatyczną, stosując zestawy SERION ELISA classic *Leptospira* IgM i IgG (Instytut Virion/Serion GmbH, Niemcy), które wykonywano zgodnie z procedurą podaną przez producenta. Poziomy przeciwciał klasy IgM  $\geq 20$  U/ml i klasy IgG  $\geq 9$  U/ml przyjmowano jako wynik dodatni.

## WYKRYWANIE DNA *LEPTOSPIRA* SPP. I *C. BURNETII* METODĄ PCR

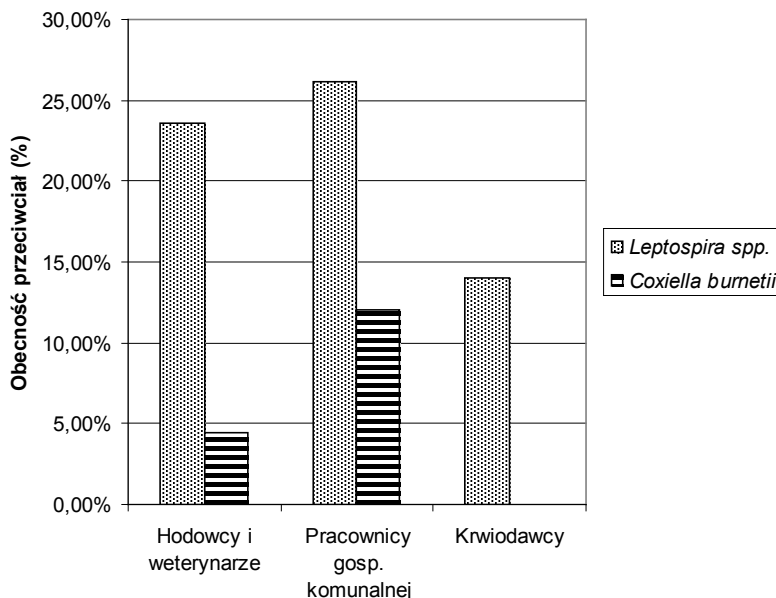
Bakteryjne DNA izolowano z krwi badanych osób, stosując zestawy do izolacji DNA - QIAamp Tissue kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Niemcy), zgodnie z procedurą producenta. Próbkę DNA były przechowywane w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$  do czasu wykonania oznaczenia. Wyizolowane DNA użyto do wykrycia materiału genetycznego *C. burnetii* stosując startery COX-F (5'-GTC TTAAGG TGG GCT GCG TG -3') i COX-R (5'-CCC CGA ATC TCA TTG ATC AGC -3') komplementarne do genu transpozonu Is1111a.

Do wykrywania materiału genetycznego *Leptospira* spp. zastosowano startery G-1 (5'-CTG AAT CGC TGT ATA AAA GT -3') i G-2 (5'-GGA AAA CAA ATG GTC GGA AG -3'), które umożliwiają amplifikację DNA patogennych szczepów: *L. interrogans*, *L. borgpetersenii*, *L. weillii*, *L. noguchii*, *L. santarosai* i *L. meyeri* (11,12). Końcowa objętość mieszaniny reakcyjnej wynosiła 50  $\mu\text{l}$  i zawierała 10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200  $\mu\text{M}$  dNTP (dATP, dTTP, dCTP i dGTP), 50 pmol każdego startera i 1.5 U Gold Taq DNA polimerazy (Perkin-Elmer Cetus, USA). Do każdej mieszaniny reakcyjnej dodano 5  $\mu\text{l}$  DNA. Kontrolą dodatnią była próbka DNA *L. interrogans* (serowar M-84) oraz *C. burnetii* (szczep Henzerling) a kontrolą ujemną była woda.

Warunki reakcji były następujące: 5 min wstępnej denaturacji w  $95^{\circ}\text{C}$ , 40 cykli (denaturacja -1 min w  $95^{\circ}\text{C}$ , przyłączanie starterów -1min w  $55^{\circ}\text{C}$ , wydłużanie - 1min w  $72^{\circ}\text{C}$ ) oraz końcowe wydłużanie 3 min w  $72^{\circ}\text{C}$ . PCR przeprowadzono w termocyklerze (Eppendorf AG, Niemcy).

## WYNIKI

Zbadano 177 próbek krwi pochodzących od: hodowców bydła i lekarzy weterynarii (92 próbki), od pracowników gospodarki komunalnej, zajmujących się usuwaniem nieczystości stałych (42 próbki) oraz od



Ryc.1. Występowanie przeciwciał dla *Leptospira sp.* i *Coxiella burnetii* w surowicy krwi ludzi z wybranych grup zawodowych w powiecie radomskim

Fig.1. The presence *Leptospira sp.* and *Coxiella burnetii* serum antibodies in humans of various professions in the district of Radom

dawców krwi stanowiących grupę kontrolną (43 próbki). Wszyscy badani pochodzili z powiatu radomskiego.

Swoiste przeciwciała klasy IgG dla antygenów *C. burnetii* fazy II wykryto w surowicy krwi u 4,4 % hodowców i lekarzy weterynarii oraz u 12% pracowników gospodarki komunalnej. U krwiodawców przeciwciał nie stwierdzono. Wykryte miana przeciwciał wynosiły: u hodowców i lekarzy weterynarii 64-128; a u pracowników gospodarki komunalnej – 64-256.

Przeciwciała dla *Leptospira spp.* obecne były w surowicy krwi u 23,6 % hodowców i weterynarzy, u 26,2 % pracowników gospodarki komunalnej oraz 14% dawców krwi (ryc.1). Swoiste przeciwciała klasy IgM, wskazujące na trwałe zakażenie, wykryto u 16,3 % pracowników gospodarki komunalnej i u 9,3 % krwiodawców.

Z próbek krwi wyizolowano DNA i zbadano metodą PCR w kierunku obecności zakażenia *Coxiella burnetii* i *Leptospira sp.* DNA *C. burnetii* wykryto w jednej próbce pochodzącej od lekarza weterynarii (1,1%). Przeciwciał w niej nie stwierdzono. DNA *Leptospira spp.* w badanym materiale nie wykryto.

## DYSKUSJA

Leptospiroza w Polsce jest rzadko rozpoznawana i diagnozowana. Zwykle rozpoznawane są ciężkie zakażenia wymagające hospitalizacji. Definicja przypadku leptospirozy u człowieka w krajach Unii Europejskiej opiera się na zgodności objawów z opisem klinicznym oraz na dodatnich wynikach badań laboratoryjnych. W Polsce natomiast, mimo że choroba

ta podlega obowiązkowi zgłaszania i rejestracji, zaproponowana definicja przypadku opiera się wyłącznie na rozpoznaniu klinicznym (13,14). Od 2004 r. opisano w Polsce tylko pojedyncze przypadki zachorowań.

Metodami stosowanymi w diagnostyce laboratoryjnej leptospirozy są: posiew bezpośredni moczu oraz test aglutynacji mikroskopowej (MAT), test immunoenzymatyczny ELISA, test immunofluorescencyjny (IFA) a także PCR. Zarówno metoda hodowli jak również MAT są pracochłonne i wymagają dłuższego czasu do uzyskania wyniku. Identyfikacja gatunków *Leptospira* przy zastosowaniu MAT wymaga stałego utrzymywania hodowli wielu szczepów, reprezentujących różne serotypy poszczególnych gatunków tych bakterii, a ponadto stwarza trudności interpretacyjne przy jednokrotnym badaniu surowic. Wskazane w związku z tym jest kilkukrotne badanie materiału pacjenta i monitorowanie dynamiki przeciwciał (12). ELISA jest metodą znacznie szybszą. Jednocześnie, badania porównujące wyniki uzyskane metodą MAT i ELISA wykazały, że 90% dodatnich próbek badanych metodą MAT było również dodatnich w klasie IgM w odczynie ELISA, a 82% ujemnych próbek w MAT było także ujemnych w teście IgM ELISA. Zgodność dodatnich wyników uzyskanych metodą IgM ELISA i PCR wynosiła 61%. Porównując testy komercyjne ELISA różnych producentów można powiedzieć, że czułość testów jest podobna, przy niewielkich różnicach ich swoistości (15). Należy rozważyć możliwość zastosowania testu ELISA jako szybkiej metody do identyfikacji zakażeń *Leptospira spp.*

W Polsce podobnie jak w Europie, gorączka Q występuje głównie w postaci ognisk, chociaż zdarzają się także sporadyczne przypadki zachorowań. Naj-

większe ognisko gorączki Q w Polsce miało miejsce w południowej Wielkopolsce, gdzie wśród 4214 osób badanych, 34,4% było seropozytywnych. Od 1988 do 1991 roku, w centralnej części tego regionu, przeciwciała dla *C. burnetii* wykryto u 22,7% spośród 6396 zbadanych. W następnych latach, odsetek ten wahał się od 16,6% do 34,7% (8,16). W 1992 r. epidemię gorączki Q wykryto u 25 osób na farmie w Legnicy, gdzie źródłem zakażenia było bydło oraz u 18 osób będących pracownikami garbarni skór w Myślenicach, mających kontakt z importowanymi skórami dzikich zwierząt. Istnieją również sporadyczne przypadki zachorowań na gorączkę Q w różnych regionach Polski, u osób, które wykonywały sezonowe prace poza granicami kraju (9). Na podstawie badań przeprowadzonych 2003 r. stwierdzono obecność przeciwciał dla antygenów *C. burnetii* u rolników we wschodniej Polsce. Uzyskane wyniki mogą sugerować, że badany obszar mógł być w przeszłości regionem epidemii gorączki Q lub że przeciwciała występują przede wszystkim u aktywnych zawodowo rolników ponieważ nie wykryto przeciwciał u młodych i starszych rolników (17). W 2006 roku opisano przypadek 55 letniego mężczyzny chorego na gorączkę Q, objawiającą się atypowym zapaleniem płuc. Mężczyzna ten podczas pobytu w Libanie uległ zakażeniu prawdopodobnie drogą pokarmową pijąc surowe mleko (18). W latach 2005-2010 ogniska gorączki Q stwierdzono na południu Polski, na terenach województw opolskiego, małopolskiego i podkarpackiego. Źródłem zakażenia dla ludzi było tam bydło.

Metodą referencyjną stosowaną do badania gorączki Q jest test immunofluorescencji pośredniej (IFA) wykrywający przeciwciała klasy IgM i IgG dla antygeny fazy I i fazy II *C. burnetii*. Obecność antygeny fazy I świadczy o przewlekłym zakażeniu natomiast przeciwciała fazy II występują w czasie ostrej infekcji.

Na podstawie bieżących danych, można stwierdzić, że obydwie choroby odzwiercące występują u ludzi na terenie Polski, zwłaszcza wśród osób mających bezpośredni kontakt ze zwierzętami lub ich wydzielinami i wydalninami. Zarówno leptospiroza jak i gorączka Q nierozpoznane we wczesnej fazie zakażenia mogą prowadzić do groźnych powikłań, jednocześnie ze względu na często mało swoiste i niejednoznaczne objawy, wymagają dokładnych badań laboratoryjnych oraz wnikliwej i profesjonalnej interpretacji uzyskanych wyników. Ze względu na brak prawdziwych danych dotyczących zachorowań na leptospirozę i niepełnych danych na temat występowania gorączki Q zasadnym byłoby wprowadzenie w Polsce ścisłego nadzoru epidemiologicznego nad tymi chorobami. Jednocześnie konieczna jest weryfikacja obowiązującej w Polsce definicji przypadku leptospirozy i stosowanie referencyjnych metod diagnostycznych zalecanych u ludzi, zarówno w przypadku leptospirozy jak i gorączki Q

## WNIOSKI

Obok hodowców zwierząt (świń i bydła), weterynarzy również pracowników zakładów oczyszczania miasta zajmujących się wywozem nieczystości stałych, należy zaliczyć do grupy zwiększonego ryzyka zachorowania na leptospirozę i gorączkę Q ponieważ wykazano u nich wyższą częstość występowania przeciwciał dla antygenów *Leptospira* spp. oraz *C. burnetii* w stosunku do grupy kontrolnej (dawcy krwi).

Powinno się wykonywać okresowe badania kontrolne w kierunku obecności zakażeń tymi patogenami u ludzi wykonujących zawody zwiększające ryzyko zakażenia *Leptospira* spp. i *C. burnetii* (pracownicy gospodarki komunalnej i hodowcy zwierząt).

Zarówno leptospiroza jak i gorączka Q powinny być brane pod uwagę w diagnostyce różnicowej, w przypadku osób z objawami grypopodobnymi mających kontakt ze zwierzętami.

## PIŚMIENNICTWO

1. Smythe LD, Smith IL, Smith GA, I in. A quantitative PCR (TaqMan) assay for pathogenic *Leptospira* spp. BMC Infect Dis 2002;8:13.
2. Schoonman L, Swai ES. Risk factors associated with the seroprevalence of leptospirosis, amongst at-risk groups in and around Tanga city, Tanzania. Ann Trop Med Parasitol 2009;103:711-8.
3. 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;13:695-9
4. Chmielewski T. Stare i nowe riketsjozy. Post Mikrobiol 2006; 45:23-25
5. Platt-Samoraj A, Ciecierski H, Michalski M. Role of goats in epizootiology and epidemiology of Q fever. Pol J Vet Sci 2005;8:79-83.
6. Anusz Z. Q fever in humans and animals. Olsztyn: WART; 1995
7. Mikołajczyk E, Lewińska Z, Lojewska R, i in. Serologic reactions in humans during the outbreak of Q fever. Przegl Epidemiol 1986;40:342-8.
8. Tylewska-Wierzbanowska S, Lewkowicz H, Wesółowska M. *Coxiella burnetii* infections (Q fever) in animals and humans in Poznan and Leszno districts detected by serodiagnosis. Przegl Epidemiol 1993;47:399-404.
9. Tylewska-Wierzbanowska S, Kruszevska D, Chmielewski T. Epidemics of Q fever in Poland in 1992-1994. Roczn Akad Med Białymst 1996;41:123-8.
10. Lutynski R. First focus of Q-fever on the territory of Poland. Przegl Lek 1993;12:187-8.
11. Brown PD, Gravekamp C, Carrington DG, i in. Evaluation of the polymerase chain reaction for early diagnosis of leptospirosis. J Med Microbiol 1995;43:110-4.

12. Ooteman MC, Vago AR, Koury MC. Evaluation of MAT, IgM ELISA and PCR methods for the diagnosis of human leptospirosis. *J Microbiol Methods* 2006; 65:247-57.
  13. Czerwiński M, Sadkowska-Todys M. Epidemiologic analysis of human Leptospirosis in Poland in 1995-2002. I. Clinical features and laboratory diagnosis. *Przeegl Epidemiol* 2004;58:197-205.
  14. Wasiński B. Leptospirosis - current problems. *Przeegl Epidemiol* 2011;65:471-6.
  15. Trombert-Paolantoni S, Thomas P, Hermet F, i in. Leptospirosis screening: performance of the Serion Elisa Classic Leptospira IgM KIT. *Pathol Biol* 2010;58:95-9.
  16. Tylewska-Wierzbowska S, Rumin W, Lewkowicz H, i in. Epidemic of Q fever in Leszno district in Poland. *Eur J Epidemiol* 1991;7:307-9.
  17. Cisak E, Chmielewska-Badora J, Mackiewicz B, i in. Prevalence of antibodies to *Coxiella burnetii* among farming population in eastern Poland. *Ann Agric Environ Med* 2003;10:265-7.
  18. Kozielowicz D, Jendryczka E, Olczak A, i in. Q fever - case report. *Wiad Lek* 2006;59:274-6
- Otrzymano: 10.09.2012 r.  
Zaakceptowano do druku: 2.10.2012 r.
- Adres do korespondencji:**  
Beata Fiecek  
Samodzielna Pracownia Riketsji, Chlamydii i Krętków  
Odzwierzęcych,  
Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego - Państwowy  
Zakład Higieny  
ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa  
tel. (22) 54-21-261 lub 250  
e-mail: bfiecek@pzh.gov.pl