

T. ROCHA

**LEPTOSPIROSE: CONCLUSÕES SOBRE UM NOVO INQUÉRITO  
SEROLÓGICO FEITO EM BOVINOS SERO-NEGATIVOS  
À BRUCELOSE EM PORTUGAL**

LISBOA

---

1 9 8 8

**LEPTOSPIROSE: CONCLUSÕES SOBRE UM NOVO INQUÉRITO  
SEROLÓGICO FEITO EM BOVINOS SERO-NEGATIVOS  
À BRUCELOSE EM PORTUGAL**

T. ROCHA

**RESUMO**

É nosso objectivo neste trabalho apresentar as principais conclusões de um estudo serológico previamente efectuado, cuja divulgação pensamos ter interesse para um melhor conhecimento da leptospirose bovina em Portugal.

**LEPTOSPIROSE: CONCLUSIONS SUR UN NOUVEU ENQUÊTE  
SEROLOGIQUE EN BOVINS SERONEGATIFS À LA BRUCELOSE  
AU PORTUGAL**

**RÉSUMÉ**

C'est notre objectif dans ce travail de presenter les principaux conclusions sur un étude serologique auparavant réalisé, dont la divulgation nous semble avoir intérêt pour une meilleure connaissance de la leptospirose bovine au Portugal.

**LEPTOSPIROSIS: CONCLUSIONS ON A NEW SEROLOGICAL  
SURVEY IN BRUCELLOSIS SERONEGATIVE BOVINES  
IN PORTUGAL**

**SUMMARY**

It is our aim in this paper to present the main conclusions of a previously undertaken serological research, whose divulgation we think of interest for a better understanding of bovine leptospirosis in Portugal.

## LEPTOSPIROSE: CONCLUSÕES SOBRE UM NOVO INQUÉRITO SEROLÓGICO FEITO EM BOVINOS SERO-NEGATIVOS À BRUCELOSE EM PORTUGAL

T. ROCHA \*

### INTRODUÇÃO

As conclusões apresentadas neste trabalho são uma compilação dos resultados obtidos em 3 estudos anteriores, dois dos quais (1,2) foram efectuados em colaboração com o Laboratório de Leptospiras do Instituto de Higiene e Medicina Tropical de Lisboa. O terceiro só foi possível graças à colaboração do Laboratório de Veterinária de Angra do Heroísmo (3).

O último inquérito serológico sobre leptospirose tinha sido efectuado em 1972 por Azevedo e Palmeiro (4) e não abrangera a totalidade das regiões do continente; por estas razões pensámos que teria interesse fazer um novo levantamento.

Tanto a brucelose como a leptospirose são doenças que podem afectar o gado bovino e que têm sido associadas a problemas de aborto e quebra de lactação. Até agora, em Portugal, bastante importância tem sido dada à Brucelose como causadora de tais perturbações, havendo normalmente pouca preocupação em fazer um diagnóstico diferencial em relação à leptospirose que, no entanto, tem sido demonstrado ser causadora de aborto, partos prematuros e mastites com quebra de lactação em numerosos países europeus (5, 6).

Por esta razão pensámos também que teria interesse escolher como população de estudo bovinos sero-negativos à brucelose e verificar até que ponto a infecção por *Leptospira interrogans* neles poderia ocorrer, quais os sero-

vars mais frequentemente encontrados e qual a sua distribuição geográfica.

Devido às duas fases do estudo referente a Portugal continental apresentarem algumas diferenças de estruturação, nomeadamente no que diz respeito à amostragem dos soros, este sumário será apresentado respeitando a ordem cronológica dos referidos estudos.

Os soros analisados pertenciam a bovinos sero-negativos à brucelose. A pesquisa de anticorpos anti-leptospira foi efectuada pelo Teste de Aglutinação Microscópica com leitura directa em placa segundo Sulzer e Jones (7). Os antigénios usados foram culturas vivas de leptospiras, tendo sido usados os seguintes serovars de *L. interrogans*, recomendados pela O.M.S. (9): *icterohaemorrhagiae*, *copenhageni*, *pomona*, *grippotyphosa*, *canicola*, *bratislava*, *hardjo*, *bataviae*, *autumnalis*, *ballum*, *celledoni*, *javanica*, *poi*, *mini*, *pyrogenes*, *sejroe*, *saxkoebing*, *tarassovi*, *hebdomadis* e *cynopteri*. Quando títulos positivos ( $\geq 1:100$ ) para mais do que um antigénio ocorriam na mesma amostra de soro, todos os títulos dentro de 2 diluições séricas do título mais alto foram considerados para a prevalência serológica dos antigénios individuais (1, 2, 3).

### I — LEPTOSPIROSE no RIBATEJO e OESTE, BEIRA LITORAL e ENTRE DOURO e MINHO

O estudo destas três regiões foi efectuado em 1986 (1), tendo então apenas sido possível obter soros de algumas Zonas Agrárias.

\* Médica Veterinária de 2.ª classe em serviço no LNIV.

Foram testados 1052 soros, podendo os resultados referentes às prevalências da infecção de acordo com a origem das amostras ser vistos na tabela 1. Na tabela 2 estão apresentados os resultados da prevalência dos títulos para antígenos individuais, por região.

Os resultados demonstraram que existia uma considerável prevalência de seropositivos à leptospirose (13,3 %), particularmente interessante se tivermos em conta que no último

inquérito (4) esta era de 0,6 %. Um aumento na prevalência de leptospirose bovina já tinha sido por nós detectado (8) num estudo preliminar em bovinos.

A percentagem de soros positivos era significativamente mais baixa na BEIRA LITORAL ( $X^2 = 55,88$ ,  $DF = 2$ ;  $P < 0,001$ ) e apresentava o seu valor mais alto no RIBATEJO E OESTE (19,8 %), sendo, dentro desta região, a zona de Santarém a que mostrou prevalência mais

TABELA 1

Prevalências dos títulos positivos à leptospirose de acordo com a origem das amostras (Regiões A, B e C)

| Região                  | Zona Agrária        | N.º soros testados | N.º soros positivos | Prevalência (%) |
|-------------------------|---------------------|--------------------|---------------------|-----------------|
| RIBATEJO E OESTE (A)    | Santarém            | 89                 | 30                  | 33,7            |
|                         | Vila Franca de Xira | 170                | 38                  | 22,4            |
|                         | Caldas da Rainha    | 154                | 34                  | 22,1            |
|                         | Loures              | 148                | 9                   | 6,1             |
| Total (A)               |                     | 561                | 111                 | 19,8            |
| BEIRA LITORAL (B)       | Coimbra             | 237                | 5                   | 2,1             |
|                         | Aveiro              | 64                 | 0                   | 0               |
| Total (B)               |                     | 301                | 5                   | 1,7             |
| ENTRE DOURO E MINHO (C) | Vale do Lima        | 190                | 24                  | 12,6            |
| Total (C)               |                     | 190                | 24                  | 12,6            |
| TOTAL (A, B, C)         |                     | 1052               | 140                 | 13,3            |

TABELA 2

Prevalência dos títulos positivos à leptospirose quanto aos antígenos individuais nas Regiões A, B e C

| Sorogrupo           | Sorovar                    | N.º positivo | (%) | Regiões |        |        |
|---------------------|----------------------------|--------------|-----|---------|--------|--------|
|                     |                            |              |     | A (%)   | B (%)  | C (%)  |
| Sejroe              | <i>saxkoebing</i>          | 61           | 5,8 | 61(5,8) | 0(0)   | 0(0)   |
|                     | <i>hardjo</i>              | 60           | 5,7 | 60(5,7) | 0(0)   | 0(0)   |
|                     | <i>sejroe</i>              | 45           | 4,3 | 45(4,3) | 0(0)   | 0(0)   |
| Mini                | <i>mini</i>                | 18           | 1,7 | 18(1,7) | 0(0)   | 0(0)   |
| Pomona              | <i>pomona</i>              | 16           | 1,5 | 15(1,4) | 1(0,1) | 0(0)   |
| Canicola            | <i>canicola</i>            | 10           | 1,0 | 0(0)    | 1(0,1) | 9(0,9) |
| Icterohaemorrhagiae | <i>Icterohaemorrhagiae</i> | 10           | 1,0 | 5(0,5)  | 2(0,2) | 3(0,3) |
|                     | <i>copenhageni</i>         | 9            | 0,9 | 1(0,1)  | 1(0,1) | 7(0,7) |
| Javanica            | <i>poi</i>                 | 9            | 0,9 | 2(0,2)  | 0(0)   | 7(0,7) |
|                     | <i>javanica</i>            | 1            | 0,1 | 0(0)    | 0(0)   | 1(0,1) |
| Hebdomadis          | <i>hebdomadis</i>          | 8            | 0,8 | 8(0,8)  | 0(0)   | 0(0)   |
| Australis           | <i>bratislava</i>          | 7            | 0,7 | 1(0,1)  | 0(0)   | 6(0,6) |
| Pyrogenes           | <i>pyrogenes</i>           | 7            | 0,7 | 1(0,1)  | 0(0)   | 6(0,6) |
| Ballum              | <i>ballum</i>              | 3            | 0,3 | 1(0,1)  | 1(0,1) | 1(0,1) |
| Grippotyphosa       | <i>grippotyphosa</i>       | 1            | 0,1 | 0(0)    | 0(0)   | 1(0,1) |

A = RIBATEJO E OESTE; B = BEIRA LITORAL; C = ENTRE-DOURO-E-MINHO.

TABELA 3

Prevalências dos títulos positivos à leptospirose de acordo com a origem das amostras de soro (Regiões D, E, F e G)

| Região             | Z.I.S.<br>(n.º)     | N.º soros<br>testados | N.º soros<br>positivos | Prevalência<br>(%) |
|--------------------|---------------------|-----------------------|------------------------|--------------------|
| TRÁS-OS-MONTES (D) | Vila Real (4)       | 321                   | 14                     | 4,4                |
|                    | Bragança (5)        | 641                   | 25                     | 3,9                |
|                    | Douro Sul (6)       | 115                   | 1                      | 0,9                |
| Total (D)          |                     | 1077                  | 40                     | 3,7                |
| BEIRA INTERIOR (E) | Guarda (10)         | 493                   | 21                     | 4,3                |
|                    | Castelo Branco (11) | 652                   | 12                     | 1,8                |
| Total (E)          |                     | 1145                  | 33                     | 2,9                |
| ALENTEJO (F)       | Portalegre (16)     | 41                    | 2                      | 4,9                |
|                    | Évora (18)          | 207                   | 1                      | 0,5                |
|                    | Serpa (19)          | 76                    | 3                      | 3,9                |
|                    | Beja (20)           | 46                    | 0                      | 0                  |
| Total (F)          |                     | 370                   | 6                      | 1,6                |
| ALGARVE (G)        | Faro (23)           | 363                   | 3                      | 0,8                |
| TOTAL (D, E, F, G) |                     | 2955                  | 82                     | 2,8                |

elevada (33,7 %). Em ENTRE DOURO E MINHO a percentagem de casos positivos foi de 12,6 %.

Os títulos positivos detectados variaram entre 1:100 e 1:6400, estando a maioria compreendidos entre 1:200 e 1:800.

No que diz respeito aos serovars detectados (Tabela 2), é de salientar que os serovars *saxkoebing*, *hardjo* e *sejroe* do grupo Sejroe apresentaram as mais altas prevalências, seguidos dos serovars *mini*, *pomona*, *icterohaemorrhagiae/copenhageni*. É também interessante verificar que os títulos positivos para o serogrupo Sejroe foram detectados unicamente no RIBATEJO E OESTE, onde também o serovar *pomona* foi particularmente detectado. A discussão mais detalhada destes resultados será feita de seguida nas conclusões gerais.

## II — LEPTOSPIROSE em TRÁS-OS-MONTES, BEIRA INTERIOR, ALENTEJO e ALGARVE

Este estudo foi efectuado em 1987 (2), tendo sido possível obter soros de um maior número de concelhos, ainda que com algumas limitações, através de pedidos feitos aos laboratórios regionais.

Foram assim testados 2955 soros provenientes de 43 concelhos e abrangendo 10 das 13 Z.I.S. das 4 regiões (2).

Os resultados referentes às prevalências de seropositivos por região e Z.I.S., bem como às prevalências dos títulos para antigénios individuais estão apresentados nas tabelas 3 e 4, respectivamente.

A percentagem de positivos foi de 2,8 %, sendo significativamente mais baixa que a obtida para as 3 regiões anteriormente estudadas ( $P < 0.001$ ), mas podendo ainda considerar-se epidemiologicamente significativa (9). Se compararmos as prevalências obtidas para a leptospirose (2) e para a brucelose (D.G.P., dados não publicados) nas 4 regiões em 1987 (Tabela 5) podemos verificar que, exceptuando no ALENTEJO, as prevalências para a leptospirose foram sempre mais altas. A percentagem mais alta de casos positivos foi observada em TRÁS-OS-MONTES (3,7 %), enquanto que a mais baixa ocorreu no ALGARVE (0,8 %).

Os títulos positivos estavam compreendidos entre 1:100 e 1:3200, com um título médio geométrico de 182.

De uma observação mais detalhada dos serovars mais frequentemente detectados (Tabela 4), destacam-se os serovars *hardjo* e *sax-*

TABELA 4

Prevalência dos títulos positivos à leptospirose quanto aos antígenos individuais nas Regiões D, E, F e G

| Sorogrupo           | Sorovar                    | positivo<br>N.º | (%)  | Regiões |         |         |         |
|---------------------|----------------------------|-----------------|------|---------|---------|---------|---------|
|                     |                            |                 |      | D (%)   | E (%)   | F (%)   | G (%)   |
| Sejroe              | <i>hardjo</i>              | 19              | 0,6  | 17(0,6) | 1(0,03) | 1(0,03) | 0       |
|                     | <i>saxkoebing</i>          | 17              | 0,6  | 14(0,5) | 1(0,03) | 2(0,1)  | 0       |
|                     | <i>sejroe</i>              | 6               | 0,2  | 3(0,1)  | 1(0,03) | 2(0,1)  | 0       |
| Australis           | <i>bratislava</i>          | 18              | 0,6  | 5(0,2)  | 10(0,3) | 2(0,1)  | 1(0,03) |
| Canicola            | <i>canicola</i>            | 13              | 0,4  | 6(0,2)  | 6(0,2)  | 0       | 1(0,03) |
| Hebdomadis          | <i>hebdomadis</i>          | 11              | 0,4  | 8(0,3)  | 1(0,03) | 2(0,1)  | 0       |
| Tarassovi           | <i>tarassovi</i>           | 8               | 0,3  | 4(0,1)  | 3(0,1)  | 0       | 1(0,03) |
| Grippotyphosa       | <i>grippotyphosa</i>       | 7               | 0,2  | 2(0,1)  | 2(0,1)  | 3(0,1)  | 0       |
| Autumnalis          | <i>autumnalis</i>          | 6               | 0,2  | 3(0,1)  | 3(0,1)  | 0       | 0       |
| Pomona              | <i>pomona</i>              | 5               | 0,2  | 0       | 4(0,1)  | 1(0,03) | 0       |
| Pyrogenes           | <i>pyrogenes</i>           | 4               | 0,1  | 3(0,1)  | 1(0,03) | 0       | 0       |
| Ballum              | <i>ballum</i>              | 3               | 0,1  | 0       | 3(0,1)  | 0       | 0       |
| Icterohaemorrhagiae | <i>Icterohaemorrhagiae</i> | 2               | 0,1  | 1(0,03) | 1(0,03) | 0       | 0       |
| Cynopteri           | <i>cynopteri</i>           | 1               | 0,03 | 0       | 1(0,03) | 0       | 0       |
| Mini                | <i>mini</i>                | 1               | 0,03 | 1(0,03) | 0       | 0       | 0       |

D = TRÁS-OS-MONTES; E = BEIRA INTERIOR; F = ALENTEJO; G = ALGARVE.

TABELA 5

Prevalências de bovinos seropositivos à brucelose\* e à leptospirose em 1987 nas Regiões D, E, F e G

| Região             | Brucelose          |                     |     | Leptospirose       |                     |     |
|--------------------|--------------------|---------------------|-----|--------------------|---------------------|-----|
|                    | N.º soros testados | N.º soros positivos | %   | N.º soros testados | N.º soros positivos | %   |
| TRÁS-OS-MONTES (D) | 30.709             | 303                 | 1,0 | 1.077              | 40                  | 3,7 |
| BEIRA INTERIOR (E) | 24.206             | 169                 | 0,7 | 1.145              | 33                  | 2,9 |
| ALENTEJO (F)       | 60.195             | 1.221               | 2,1 | 370                | 6                   | 1,6 |
| ALGARVE (G)        | 9.558              | 25                  | 0,3 | 363                | 3                   | 0,8 |
| TOTAL              | 124.668            | 1.788               | 1,4 | 2.955              | 82                  | 2,8 |

\* Direcção-Geral da Pecuária, dados não publicados.

*koebing* do serogrupo Sejroe, seguidos dos sorovars *bratislava* do grupo Australis e os sorovars *canicola*, *hebdomadis* e *tarassovi*.

Foram ainda observadas algumas diferenças de região para região que nos parecem ter interesse epidemiológico e que passaremos a referir. A região de TRÁS-OS-MONTES foi pesquisada em termos de leptospirose bovina pela 1.ª vez e os resultados sugerem que, além de nela se registar a percentagem mais alta deste segundo estudo (3,7 %), a infecção se encontra geograficamente distribuída. A prevalência observada foi principalmente devida à detecção de dois focos de *hardjo* nos concelhos de Mirandela e Montalegre. Pensamos que o serovar *hardjo* poderá ser particularmente importante nesta região. Na BEIRA INTE-

RIOR (2,9 %) também observamos uma difusão geográfica dos títulos positivos, com uma interessante predominância do serovar *bratislava* do grupo Australis e uma baixa prevalência de *hardjo*. A maioria dos casos de *pomona* foram detectados aqui, apesar da sua baixa prevalência. O ALENTEJO apresentou uma reduzida percentagem de casos positivos e de sorovars infectantes, mas pensamos que a nossa amostragem (0,2 % da população bovina regional) foi aqui particularmente pouco representativa (2). O ALGARVE apresentou uma prevalência baixa (0,8 %), com uma redução significativa ( $0.01 > P > 0.001$ ) em relação à por nós obtida (4,8 %) num estudo anterior daquela região (8). No entanto, a revisão de soros positivos com *L. interrogans* sorogrupo

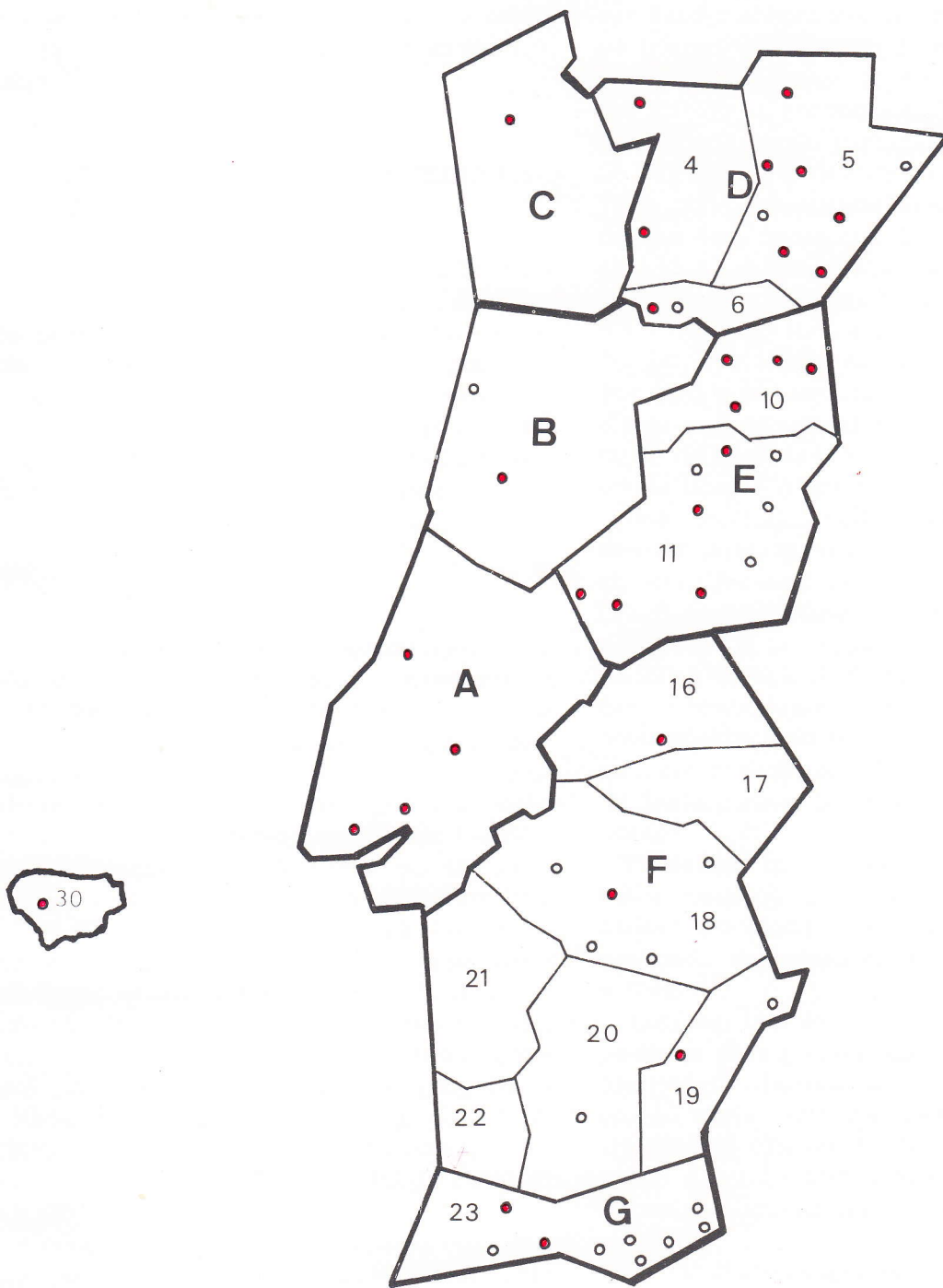


Fig. 1 — Inquérito serológico de leptospirose em bovinos sero-negativos à brucelose

- — Localidades estudadas
- — Presença de seropositivos à leptospirose
- — Negativos à leptospirose

As Z. I. S. estão indicadas por números

A = RIBATEJO E OESTE  
 B = BEIRA LITORAL  
 C = ENTRE DOURO E MINHO  
 D = TRÁS-OS-MONTES

E = BEIRA INTERIOR  
 F = ALENTEJO  
 G = ALGARVE  
 Z. I. S. 30 = TERCEIRA

Sejroe conservados a  $-20^{\circ}\text{C}$  permitiu a detecção pela primeira vez de títulos com *hardjo*, naquela região (2).

### III — LEPTOSPIROSE NA ILHA TERCEIRA, AÇORES

O exame serológico de 64 soros de bovinos da ilha Terceira permitiu a detecção, pela primeira vez, de bovinos sero-positivos à leptospirose nos Açores. A percentagem de positivos obtida foi de 18,75 %. Dos 12 casos positivos 11 apresentavam títulos múltiplos com os serovars *saxkoebing* e *hardjo* e 1 reagiu positivamente com *L. icterohaemorrhagiae* (3).

### CONCLUSÕES GERAIS

Deste estudo serológico efectuado em bovinos, salienta-se antes de mais que a ocorrência de títulos positivos à leptospirose em bovinos sero-negativos à brucelose pode atingir percentagens consideráveis (1, 2, 3) e epidemiologicamente significativas (9), pelo que a infecção por *L. interrogans* deverá sempre ser considerada no diagnóstico diferencial em situações clínicas cujos sintomas façam pensar em brucelose. Em relação ao último inquérito serológico efectuado em 1972 (4), pode observar-se um considerável aumento na prevalência da infecção. Os resultados permitem-nos também constatar que a infecção por *L. interrogans* está presente nas várias regiões geográficas examinadas, com predominância no RIBATEJO E OESTE, ENTRE DOURO E MINHO, TRÁS-OS-MONTES, BEIRA INTERIOR e TERCEIRA.

A ocorrência de reacções cruzadas em infecções por *hardjo* com serovars serologicamente relacionados (*sejroe*, *saxkoebing*, *hebdomadis*, *mini*), extensivamente descrita em estudos anteriores e por nós também detectada (1, 2, 3), permitiu-nos estimar ser o serovar *hardjo* o principal responsável pela infecção por *L. interrogans* em bovinos em Portugal. Este dado é particularmente importante se tivermos em conta que infecções por *hardjo* têm sido amplamente descritas em inúmeros países europeus como uma importante causa de aborto e quebra de lactação, tendo já justificado campanhas de vacinação (1, 2). Além disto, o sero-

var *hardjo* encontra-se adaptado ao hospedeiro bovino, provocando infecções de carácter endémico. Podemos verificar que a infecção por *hardjo* se encontra difundida em termos geográficos, sendo particularmente expressiva no RIBATEJO E OESTE e em TRÁS-OS-MONTES, onde detectamos focos de infecção endémica (em Santarém, Mirandela e Montalegre) (1, 2). A infecção por aquele serovar mostrou também ser importante na ilha TERCEIRA (3). Tudo indica que a leptospirose por *hardjo* se esteja a expandir nos bovinos em Portugal, como resultado não só da adaptação a esta espécie animal, mas também da importação de bovinos infectados e seu trânsito entre as ilhas e o continente (2).

Dos resultados pode também ver-se que o serovar *pomona* teve também uma prevalência considerável, especialmente nas regiões estudadas na 1.<sup>a</sup> fase do nosso trabalho, estando a maioria dos casos positivos concentrada no RIBATEJO E OESTE. O regime de exploração predominantemente intensivo praticado nesta região, favorecendo o contacto entre os animais, poderá contribuir para a propagação da leptospirose, particularmente do serovar *hardjo*.

Pensamos que a ocorrência de bastantes casos positivos com *L. canicola* poderá ser um reflexo do ainda baixo índice de vacinação praticado em cães, os portadores deste serovar.

Também interessante é o número de casos positivos para o serogrupo Australis (serovar *bratislava*) observados na 2.<sup>a</sup> fase do nosso estudo, encontrados na sua maioria na BEIRA INTERIOR (Tabela 4). Recentemente o serogrupo Australis tem sido considerado muito importante em animais de exploração pecuária (10).

Os resultados sugerem que a infecção pelos restantes serovars ocorre de forma esporádica e será consequência da exposição accidental, directa ou indirecta, a antigénios mantidos por outros animais domésticos e/ou selvagens (1, 2).

As diferenças climáticas poderão ainda ser um factor de influência na epidemiologia da leptospirose; assim, o clima predominantemente seco das regiões mais ao sul (ALENTEJO e ALGARVE) poderão contribuir, entre outros factores, para as mais baixas prevalências observadas.



## BIBLIOGRAFIA

1. ROCHA, T. e COLLARES-PEREIRA, M. — Leptospirosis in Portugal: Serological Evidence of Leptospiral Agglutinins in Brucellosis Seronegative Bovines. *Israel. J. Vet. Med.*, 43, 313-322, 1987.
2. COLLARES-PEREIRA, M. e ROCHA, T. — Leptospira Infection in Brucellosis Seronegative Bovines in Portugal: An Additional Survey. *Zbl. Bakt. Hyg.*, a publicar, 1988.
3. ROCHA, T. — Leptospirose Bovina na Ilha Terceira. *Rev. Port. Ciênc. Vet.*, LXXXIII, 485, 97-101, 1988.
4. AZEVEDO, J.F. e PALMEIRO, J.M. — Resultado de um novo Inquérito sobre Leptospiroses entre os Animais Domésticos de Portugal. *An. Esc. Nac. Saúde Pública e de Med. Trop.*, 6:23-25, 1972.
5. ELLIS, W.A.; O'BRIEN, J.J.; NEILL, S.D.; FERGUSON, H.W. and HANNA, J. — Bovine Leptospirosis: Microbiological and Serological Findings in Aborted Foetuses. *Vet. Rec.* 110:147-150, 1982.
6. The Present State of Leptospirosis Diagnosis and Control, Ellis, W.A. and T.W.A. Little eds., Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, 1986.
7. SULZER, C.R. and JONES, W.L. — Leptospirosis: Methods in Laboratory Diagnosis. U.S. Dept of Health, Education and Welfare. Public Health Center for Disease Control, Atlanta, Hew Publ. No. (CDC) 80-8275, 1980.
8. COLLARES-PEREIRA, M. e ROCHA, T. — Leptospires: A New Serological Survey of Bovines in Portugal. Preliminary Study. *Zbl. Bakt. Hyg. A* 257, 488, 1984.
9. W.H.O.: Guidelines For The Control of Leptospirosis. Faine, S. ed., World health Organization Offset Publication No. 67, Geneva, 1982.
10. PRITCHARD, D.G. — National Situation of Leptospirosis in the United Kingdom. In: The Present State of Leptospirosis Diagnosis and Control, Ellis, W.A. and T.W.A. Little eds., Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, 221-223, 1986.