

ЕКОЛОГІЧНІ ЗВ'ЯЗКИ ПАТОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ ІЗ ВОДОРОСТЯМИ

Ткачук Н.П.

Інститут агроекології і природокористування
Національної академії аграрних наук
вул. Метрологічна, 12, 03143, м. Київ,
Донецький національний медичний університет
вул. Привокзальна, 27, 84401, м. Лиман, Донецька область
tkachuknatalja777@gmail.com

Як складник прісноводних екосистем, спірохети *Leptospira interrogans* (Stimson 1907) Wenyon 1926 формують складні екологічні зв'язки з різноманітними видами живих організмів, зокрема численними видами водоростей. Результатом цих взаємодій є щільність популяцій *L. interrogans*, а також низка інших їхніх властивостей може зазнавати суттєвих змін. З огляду на те, що збудник здатен проникати до організму людини через ґрунт та воду, екологічні чинники, які впливають на існування бактерій *L. interrogans* в об'єктах навколишнього середовища, набувають першочергового епідемічного та епізоотичного значення. Досліджено взаємодію патогенних мікроорганізмів *L. interrogans* із колекції Інституту ветеринарної медицини НААН та зелених водоростей виду *Selenastrum gracile* Reinsch 1866 з колекції Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. Виділення водоростей *S. gracile* розводили дистильованою водою та фільтрували через стерилізуючі целюлозні фільтри. Після цього до фільтрату додавали стерильну дистильовану воду та зразки культур *L. interrogans*. Контрольні зразки містили аналогічне співвідношення середовища Фітцджеральда у модифікації Цендера та Горема, дистильованої води та *L. interrogans*. З'ясовано, що *in vitro* водорості *S. gracile* виявляють алелопатичну активність щодо популяцій *L. interrogans*. В умовах контрольованого експерименту щільність популяцій *L. interrogans* знижується під впливом біологічно-активних речовин, що продукуються водоростями виду *S. gracile*, порівняно з контролем, що свідчить про їхню бактеріостатичну дію. За зростанням чутливості до алелопатичного впливу *S. gracile* серологічні типи лептоспір утворили такий ряд: *Sejroe*, *Canicola*, *Pomona*, *Tarassovi*, *Hebdomadis Icterohaemorrhagiae*, *Grippotyphosa*, *Australis*. **Ключові слова:** *Leptospira interrogans*, зелені водорості, алелопатичний вплив, *Selenastrum gracile*.

Ecological relations between pathogenic microorganisms and algae. Tkachuk N.

Being a part of freshwater ecosystems, spirochaets *Leptospira interrogans* (Stimson 1907) Wenyon 1926 build complex ecological relationships with different species of alive organisms, as well as with numerous species of algae. As a result of these interactions population density of *L. interrogans*, as well as some abilities of these spirochaets can undergo changes. Taking into account the fact that the agent penetrates into a human body from ground and water, ecological factors that influence bacteria *L. interrogans* existence in the environmental domains become of prior epidemic and epizootic importance. Interaction of the *L. interrogans* from the collection of the Institute of Veterinary Medicine of Ukrainian National Academy of Science and green algae (*Chlorophyta*) of type *Selenastrum gracile* Reinsch 1866 from the collection of the M.G. Kholodny Insitute of Botany Ukrainian National Academy of Science has been investigated. In order to conduct a study of allelopathic influence the seaweed of type *S. gracile* was diluted with distilled water and was filtered through sterilizing cellulose filters with pores. Sterile distilled water then was added to the filtrate and of type *L. interrogans*. Control samples contained analogical correlation of Fitzgerald environment, distilled water and type *L. interrogans* species. It has been found out, that *in vitro* algae *S. gracile* showed allelopathic activity in direction of the populations of *L. interrogans*. Under conditions of controlled experiment the density of *L. interrogans* species declines influenced by biologically active substances produced by the algae of type *S. gracile*, as compared with the control, so this fact can witness to their bacteriostatic action. According to the increasing sensitivity to the allelopathic effect of *C. proteus*, serological types of leptospire formed a row: *Sejroe*, *Canicola*, *Pomona*, *Tarassovi*, *Hebdomadis Icterohaemorrhagiae*, *Grippotyphosa*, *Australis*. **Key words:** *Leptospira interrogans*, green algae, allelopathic influence, *Selenastrum gracile*.

Постановка проблеми. Є ціла низка збудників небезпечних захворювань людини і тварин, що здатні проникати в тіло нового живителя через воду. Зокрема, одними з них є спірохети виду *Leptospira interrogans* (Stimson 1907) Wenyon 1926, що спричиняють інфекційне захворювання, відоме під назвою «лептоспіроз». На вигляд лептоспіри – ніжні, тонкі, спіральні-звиті одноклітинні мікроорганізми, їх довжина становить 6–20 мкм, а діаметр – близько 0,1 мкм. Характерною ознакою лептоспір є їхня активна рухливість, що допомагає цим патогенним мікроорганізмам проникати до організму хазяїна через незначні пошкодження покривів і непошкод-

жені слизові оболонки, а також долати бактеріальні фільтри. Цим спірохетам притаманна досить складна внутрішньовидова структура. Вид *L. interrogans* представлений 202 серологічними варіантами, які за ступенем антигенної спорідненості об'єднані у 23 серологічні групи [1]. Лептоспіри – грамнегативні мікроорганізми, у них відсутні спори й капсули. За морфологією як патогенні, так і сапрофітні представники, що були виділені від людини або різних видів тварин, незважаючи на їхню належність до різних серологічних груп, не різняться між собою [2].

Актуальність дослідження. Випадки захворювань на лептоспіроз реєструються у всіх населених

людиною частинах світу [2–11], окрім Антарктиди. Патогенні лептоспіри здатні паразитувати в організмах багатьох видів домашніх і диких тварин різних систематичних та екологічних груп. Зокрема, за даними літератури, *L. interrogans* виділяли від ссавців, птахів, рептилій, амфібій, риб і безхребетних. У багатьох цих тварин патогенні лептоспіри зберігаються в організмі пожиттєво і періодично виділяються назовні переважно із сечею, при цьому клінічно ці тварини виглядають цілком здоровими. Особливо небезпечним є подібне носійство домашніми та сільськогосподарськими тваринами – свинями, великою рогатою худобою, кіньми, козами, вівцями, собаками, котами та іншими [3; 4].

Зв'язок авторського доробку з важливими науковими та практичними завданнями. Лептоспіроз завдає відчутних економічних збитків тваринницьким господарствам по всьому світу, що пов'язано із затратами на профілактику захворювання та лікування хворих тварин, а також через аборти, загибель молодняка, неплідність і зниження продуктивності тварин. Крім того, на лептоспіроз хворіють люди, і в деяких випадках це захворювання закінчується летально [12].

Лептоспіроз належить до групи природно-осередкових захворювань, тобто *L. interrogans* здатні впродовж тривалого часу циркулювати на певній території між різноманітними представниками дикої фауни та об'єктами зовнішнього середовища (вода, ґрунт) без участі людини. Так формуються осередки, у яких підтримується існування цих патогенних мікроорганізмів і відбувається їх поширення на прилеглі території. Досить часто подібні осередки зосереджені навколо водойм чи перезвожених ділянок місцевості.

Аналіз останніх досліджень і публікацій.

Одним з основних шляхів поширення патогенних лептоспір є прісна вода відкритих водойм. Чисельними дослідженнями встановлено, що спірохети *L. interrogans* здатні тривалий час виживати у воді прісних водойм. Зокрема, встановлено, що лептоспіри виживали у воді до 150 діб [1]. Проте, за даними багатьох дослідників, тривалість існування та можливість розмноження патогенних лептоспір у прісних водоймах не тільки визначаються хімічним складом води, але й значно більшою мірою залежать від специфічних екологічних зв'язків, що складаються між *L. interrogans* та численними видами гідробіонтів. Доведено, що різноманітні види прісноводних фільтраторів-бактеріотрофів (інфузорії, коловертки, ракоподібні, моховатки, молюски, личинки комах) активно вилучають лептоспір із водного середовища. Окрім того, виявлено екологічні зв'язки лептоспір із численними видами вищих рослин, що зростають у водоймах, прибережних ділянках і перезвожених землях [13–15]. Доведено, що рослини здатні впливати на популяції патогенних лептоспір через виділення в середовище різноманітних біологічно активних речовин, внаслідок чого

щільність спірохет може суттєво змінюватись порівняно з контролем. Результати експериментів дають змогу припустити, що і в природних умовах популяції спірохети здатні зазнавати значних коливань чисельності, спричинених алелопатичним впливом із боку численних видів рослин. Враховуючи потенційну небезпеку *L. interrogans* як збудника захворювань людини і тварин, відомості про чинники, які можуть призвести до суттєвих змін чисельності чи тривалості виживання цього виду спірохет у водному середовищі, мають велике практичне значення.

Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми, котрим присвячується означена стаття. Аналіз даних наукової літератури показав, що нині є суттєва прогалина у відомостях щодо екологічних взаємодій патогенних лептоспір із важливою групою водних рослин – зеленими водоростями (*Chlorophyta*). Відомо, що зелені водорості часто виступають у ролі доміантної групи рослин у складі прісноводного планктону, а також виділяють цілу низку різноманітних біологічно-активних речовин. Однак, попри це, робіт із вивчення взаємодій різноманітних видів зелених водоростей із патогенними лептоспірами вкрай мало. Враховуючи значне видове різноманіття зелених водоростей, доцільним є подальше вивчення їхніх взаємодій із патогенними спірохетами виду *L. interrogans*.

Основною метою досліджень є одержання практично цінних, науково доведених даних, які можна було б використати під час здійснення заходів із зниження потенціалів природних осередків лептоспірозів і запобігання зараження людей, домашніх і диких тварин.

Новизна. Вперше одержано дані щодо екологічних взаємодій патогенних лептоспір із поширеним видом мікроскопічних зелених водоростей водойм України – *Selenastrum gracile* Reinsch 1866.

Матеріал і методи дослідження. В експерименті вивчали алелопатичний вплив виділень водоростей *S. gracile* на щільність культур патогенних лептоспір найбільш поширених в Україні серологічних варіантів.

У дослідженнях використовували альгологічно чисті культури зелених водоростей із колекції Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного Національної академії наук України (м. Київ). Монокультури зелених водоростей *S. gracile* культивували впродовж 7–10 діб у колбах Ерленмейера об'ємом 250 см³ на середовищі Фітцджеральда в модифікації Цендера та Горема [16] за температури 22–25 °С та 12 годинному фотоперіоді за штучного освітлення лампами денного світла з інтенсивністю 25 клк.

Експерименти проводили на базі лабораторії лептоспірозів із колекцією штамів мікроорганізмів Інституту ветеринарної медицини Національної академії аграрних наук України (м. Київ). Лептоспір вирощували за температури 27–28 °С на живиль-

ному середовищі Терських і Кортгофа із вмістом 10% інактивованої сироватки крові овець.

В експерименті використовували культури спірохет 7–14-добового віку з накопиченням 50–100 лептоспир у полі зору мікроскопа, з характерною морфологією, активною рухливістю та без ознак аутоаглютинації. Враховуючи, що вид *L. interrogans* має велику кількість серологічних варіантів, в експериментах використали набір штамів цих мікроорганізмів, що застосовується у лабораторіях України як антиген для серологічної діагностики лептоспірозу людей і тварин (табл. 1).

Експерименти проводили *in vitro*, що моделювали умови водних екосистем. Вивчення впливу зелених водоростей на патогенних лептоспир проведено методом біотестування. Присутність фонові та симбіотичної мікрофлори у зразках є небажаною, оскільки вносить суттєві зміни у результати досліджень. У зв'язку з цим одержані водні розчини виділень водоростей необхідно було стерилізувати способом, який би унеможливив руйнування біологічно активних речовин. Найбільшою мірою нашим потребам відповідає метод стерилізації водних розчинів за допомогою фільтрації через целюлозні фільтри з діаметром пор 0,2 мкм (Sartorius, Німеччина).

Дослідні зразки містили фільтрати з виділеннями *S. gracile* у розведеннях 1:10, 1:100, 1:1000 та 1:10000. Для отримання розведень фільтратів виділень та як контроль використовували стерильне поживне середовище Фітцджеральда в модифікації Цендера та Горема.

Інокуляти для контрольних і дослідних зразків відбирали з однієї культури лептоспир певного серологічного варіанту. Отже, початкова щільність лептоспир у пробах для кожного серологічного варіанта була однаковою. Дослід проводили в п'ятикратній повторюваності. Облік вмісту спірохет у зразках проводили через 24 години від початку експерименту. Щільність клітин лептоспир визначали методом прямого підрахунку [17] у спеціально виготовлених камерах [18], для мікроскопування зразків використовували мікроскоп МБР-1 з конденсором темного поля ОИ-13.

Оцінка впливу виділень зелених водоростей на *L. interrogans* проводилась шляхом порівняння вмісту лептоспир у досліді та контролі, при цьому за 100% приймався вміст клітин у контрольних зразках.

Виклад основного матеріалу. Дані, одержані в перебігу експериментів із вивчення впливу виділень водоростей *S. gracile* у розведенні 1:10 на культури піддослідних серологічних варіантів патогенних лептоспир, наводяться у таблицях 2 та 3.

Таблиця 1

Штами спірохет *L. interrogans*, що були використані в дослідженнях

№ з/п	Серологічна група	Серологічний варіант	Штам	Умовні скорочення
1	<i>Sejroe</i>	<i>pollonica</i>	<i>493 Poland</i>	<i>Sejroe</i>
2	<i>Hebdomadis</i>	<i>kabura</i>	<i>Kabura</i>	<i>Hebdomadis</i>
3	<i>Tarassovi</i>	<i>tarassovi</i>	<i>Perepelicyн</i>	<i>Tarassovi</i>
4	<i>Pomona</i>	<i>pomona</i>	<i>Pomona</i>	<i>Pomona</i>
5	<i>Grippotyphosa</i>	<i>grippotyphosa</i>	<i>Moskva V</i>	<i>Grippotyphosa</i>
6	<i>Canicola</i>	<i>canicola</i>	<i>Hond Utrecht IV</i>	<i>Canicola</i>
7	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>copenhageni</i>	<i>M 20</i>	<i>Icterohaemorrhagiae</i>
8	<i>Australis</i>	<i>bratislava</i>	<i>Yez bratislava</i>	<i>Australis</i>

Таблиця 2

Щільність клітин *L. interrogans* у дослідних і контрольних зразках за дії культуральних фільтратів *S. gracile* у розведенні 1:10

№ досліду	Щільність клітин лептоспир різних серологічних варіантів, $\times 10^6/\text{cm}^3$							
	<i>sejroe</i>		<i>hebdomadis</i>		<i>tarassovi</i>		<i>pomona</i>	
	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль
1	16,20	23,70	6,30	11,10	4,50	7,20	18,80	30,00
2	14,50	21,20	6,60	9,90	4,90	8,00	17,60	25,60
3	13,80	22,40	6,70	11,30	5,00	8,10	18,20	27,10
4	15,30	19,10	6,40	10,80	5,10	7,50	15,40	23,70
5	16,70	20,80	6,20	9,70	4,70	7,70	16,10	27,50
M*	15,30	21,44	6,44	10,56	4,84	7,70	17,22	26,78
t	6,54		12,30		14,56		7,80	
$t_{\text{кр}} = 5,04; P = 0,001$								

Примітки: тут і далі М – середнє арифметичне; t – коефіцієнт Стьюдента; $t_{\text{кр}}$ – критичне значення коефіцієнта Стьюдента; P – рівень ймовірності

Аналіз одержаних результатів показав, що впродовж 24 годин щільність лептоспир у дослідних зразках порівняно з контрольними знизилась, що вказує на бактеріостатичну дію культуральних фільтратів зелених водоростей *S. gracile* на піддослідні культури спірохет.

Звертає увагу на себе той факт, що показники пригнічення використаних у дослідженнях серологічних варіантів *L. interrogans* дещо відрізнялись. Зокрема, якщо розмістити серологічні варіанти леп-

тоспир за збільшенням показника пригнічення, отримаємо такий ряд: *Sejroe* (28,7%), *Canicola* (25,2%), *Pomona* (35,7%), *Tarassovi* (37,1%), *Hebdomadis* (39,0%), *Icterohaemorrhagiae* (43,3%), *Grippotyphosa* (44,6%), *Australis* (51,9%).

У наступній групі дослідних зразків, що містили культуральне середовище водоростей *S. gracile* у розведенні 1:100, показники пригнічення спірохет були дещо нижчими (табл. 4, 5).

Таблиця 3

Щільність клітин *L. interrogans* у дослідних і контрольних зразках за дії культуральних фільтратів *S. gracile* у розведенні 1:10

№ досліджу	Щільність клітин лептоспир різних серологічних варіантів, $\times 10^6/\text{cm}^3$							
	<i>grippotyphosa</i>		<i>canicola</i>		<i>icterohaemorrhagiae</i>		<i>australis</i>	
	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль
1	10,80	19,30	8,70	11,10	7,50	13,50	6,00	12,50
2	11,40	21,10	8,50	11,50	7,60	13,90	6,30	12,90
3	11,10	18,80	8,20	10,70	7,20	12,40	6,70	14,20
4	9,90	17,30	8,60	12,00	6,90	11,70	6,40	13,80
5	10,50	20,40	9,10	12,30	7,30	12,90	6,60	13,10
M	10,74	19,38	8,62	11,52	7,30	12,88	6,40	13,30
t	12,22		8,92		13,64		20,80	
$t_{\text{кр}} = 5,04; P = 0,001$								

Таблиця 4

Щільність клітин *L. interrogans* у дослідних і контрольних зразках за дії культуральних фільтратів *S. gracile* у розведенні 1:100

№ досліджу	Щільність клітин лептоспир різних серологічних варіантів, $\times 10^6/\text{cm}^3$							
	<i>sejroe</i>		<i>hebdomadis</i>		<i>tarassovi</i>		<i>potomona</i>	
	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль
1	15,90	23,70	7,60	11,10	6,30	7,20	21,70	30,00
2	18,30	21,20	8,10	9,90	5,70	8,00	20,90	25,60
3	17,10	22,40	7,50	11,30	6,10	8,10	21,50	27,10
4	18,60	19,10	7,70	10,80	5,80	7,50	18,20	23,70
5	19,60	20,80	7,30	9,70	6,00	7,70	19,40	27,50
M	17,90	21,44	7,64	10,56	5,98	7,70	20,34	26,78
t	3,53		8,39		8,78		5,19	
$t_{\text{кр}} = 3,36; P = 0,01$								

Таблиця 5

Щільність клітин *L. interrogans* у дослідних і контрольних зразках за дії культуральних фільтратів *S. gracile* у розведенні 1:100

№ досліджу	Щільність клітин лептоспир різних серологічних варіантів, $\times 10^6/\text{cm}^3$							
	<i>grippotyphosa</i>		<i>canicola</i>		<i>Icterohaemorrhagiae</i>		<i>australis</i>	
	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль
1	14,10	19,30	9,30	11,10	10,80	13,50	8,40	12,50
2	14,70	21,10	9,90	11,50	11,30	13,90	8,70	12,90
3	12,50	18,80	8,80	10,70	10,80	12,40	9,30	14,20
4	11,80	17,30	9,30	12,00	9,40	11,70	8,50	13,80
5	13,90	20,40	10,20	12,30	9,70	12,90	9,10	13,10
M	13,40	19,38	9,50	11,52	10,40	12,88	8,80	13,30
t	7,03		5,30		4,66		12,73	
$t_{\text{кр}} = 3,36; P = 0,01$								

Зокрема, серологічні групи лептоспир за збільшенням показника пригнічення розташувались у такому порядку: *Sejroe* (16,5%), *Canicola* (17,4%), *Icterohaemorrhagiae* (19,3%), *Tarassovi* (22,3%), *Pomona* (24,0%), *Hebdomadis* (27,7%), *Grippotyphosa* (30,9%), *Australis* (33,8%).

У зразках, що містили розведення культурального середовища водоростей *S. gracile* у розведенні 1:1000, спостерігаються такі показники пригнічення культур лептоспир – *Icterohaemorrhagiae* (8,7%), *Sejroe* (10,4%), *Canicola* (9,0%), *Tarassovi* (15,1%), *Pomona* (18,7%), *Hebdomadis* (20,3%), *Grippotyphosa* (23,9%), *Australis* (25,7%).

Під час порівняння вмісту спірохет у дослідних і контрольних зразках, що містили розведення культурального середовища водоростей 1:10000, статистично достовірної різниці виявлено не було.

Отже, проведені лабораторні дослідження показали, що патогенні лептоспирі реагують на алелопатичний вплив із боку зелених водоростей, зокрема *S. gracile*, змінюючи щільність своїх популяцій.

Одержані результати дають підстави припустити, що у прісних водоймах, за домінування у складі альгогруповань *S. gracile*, для існування патогенних лептоспир складаються несприятливі умови.

Цілком можливо, що в основі відомого ефекту «природних осередків» деяких інфекцій лежить нерівномірність умов сприятливого існування для патогенних мікроорганізмів, яка зумовлена специфічністю рослинних угруповань та їхнім алелопатичним впливом.

Враховуючи велике епідеміологічне та епізоотичне значення, яке мають патогенні мікроорганізми, необхідно продовжувати дослідження для з'ясування закономірностей їх взаємодій та існування в об'єктах зовнішнього середовища.

Головні висновки. Встановлено, що виділення зелених водоростей *S. gracile* у розведеннях від 1:10 і до 1:1000 здійснюють негативний вплив на культури *L. interrogans*, що проявлялось у помітно нижчому вмісті клітин спірохет у дослідних зразках порівняно з контрольними. Реакція серологічних варіантів спірохет *L. interrogans*, що були використані в дослідженнях, на вплив біологічно активних речовин, виділених зеленими водоростями *S. gracile*, дещо відрізнялась. За зменшенням стійкості до впливу виділень водоростей штами лептоспир розміщувались у такому порядку: *Sejroe*, *Canicola*, *Pomona*, *Tarassovi*, *Hebdomadis*, *Icterohaemorrhagiae*, *Grippotyphosa*, *Australis*, що свідчить про складну внутрішньовидову структуру *L. interrogans* та їхню високу екологічну пластичність.

Перспективи використання результатів досліджень. Виявлена здатність зелених водоростей стримувати розмноження патогенних лептоспир може мати практичне втілення під час розроблення методів санації об'єктів зовнішнього середовища від хвороботворних агентів. Утім, для з'ясування низки важливих питань необхідно провести ще низку досліджень і спостережень щодо взаємодій патогенних лептоспир з іншими видами зелених водоростей.

Література

1. Малахов Ю.А., Панин А.Н., Соболева Г.Л. Лептоспироз животных. Москва, 2000. 584 с.
2. Bharti A.R. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lancet Infectious Diseases*. 2003. № 3. P. 757–771.
3. Levett P.N. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*. 2001. № 14. P. 296–326.
4. Vinetz J.M. Leptospirosis. *Current Opinion in Infectious Diseases*. 2001. № 14. P. 527–538.
5. Vieira A.S., D'Andrea P.S., Vilela R.D., Loretto D., Jaeger L.H., Carvalho-Costa F.A., Lilenbaum W. Pathogenic *Leptospira* species are widely disseminated among small mammals in Atlantic Forest biome. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2019. № 66(3). P. 1195–1201. DOI: 10.1111/tbed.13135.
6. Hamond C., Silveira C., Buroni F., Suanes A., Nieves C., Salaberry X., Araújo V., Costa R.A., Rivero R., Giannitti F., Zaranonelli L. *Leptospira interrogans* serogroup Pomona serovar Kennewicki infection in two sheep flocks with acute leptospirosis in Uruguay. *Transbound Emerg Dis*. 2019. № 66(3). P. 1186–1194. DOI: 10.1111/tbed.13133.
7. Neela V.K., Azhari N.N., Joseph N., Mimie N.P., Ramli S.N., Mustapha N.F., Ishak S.N., Mohd-Taib F.S., Yusof M.A., Desa M.N., Bashiru G., Sekawi Z. An outbreak of leptospirosis among reserve military recruits, Malaysia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019. № 38(3). P. 523–528. DOI: 10.1007/s10096-018-03450-6.
8. Rahelinirina S., Bourhy P., Andriamiaramana F., Garin B., Rajerison M. High Prevalence of *Leptospira* spp. in Rodents in an Urban Setting in Madagascar. *Am J Trop Med Hyg*. 2019. № 100(5). P. 1079–1081. DOI: 10.4269/ajtmh.18-0642.
9. Fischer S., Mayer-Scholl A., Imholt C., Spierling N.G., Heuser E., Schmidt S., Reil D., Rosenfeld U.M., Jacob J., Nöckler K., Ulrich R.G. *Leptospira* Genomespecies and Sequence Type Prevalence in Small Mammal Populations in Germany. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2018. № 18(4). P. 188–199. DOI: 10.1089/vbz.2017.2140.
10. Dietrich M., Gomard Y., Lagadec E., Ramasindrazana B., Le Minter G., Guernier V., Benlali A., Rocamora G., Markotter W., Goodman S.M., Dellagi K., Tortosa P. Biogeography of *Leptospira* in wild animal communities inhabiting the insular ecosystem of the western Indian Ocean islands and neighboring Africa. *Emerg Microbes Infect*. 2018. № 7(1). P. 57. DOI: 10.1038/s41426-018-0059-4.
11. McVea D.A., Himsforth C.G., Patrick D.M., Lindsay L.R., Kosoy M., Kerr T. Exposure to Rats and Rat-Associated *Leptospira* and *Bartonella* Species Among People Who Use Drugs in an Impoverished, Inner-City Neighborhood of Vancouver, Canada. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2018. № 18(2). P. 82–88. DOI: 10.1089/vbz.2017.2179.
12. Haake D.A., Levett P.N. Leptospirosis in humans. *Current topics in microbiology and immunology*. 2015. № 387. P. 65–97.

13. Гулай О.В. Біохімічні зв'язки *Leptospira interrogans* з фоновими видами альгофлори акваценозів Центральної України. *Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія : Біологія.* 2003. № 1(20). С. 77–80.
14. Гулай О.В., Гулай В.В. Аркушина Г.Ф. Особливості екологічних взаємодій між представниками родини хвощі та патогенними лептоспірами в умовах перезвожених земель. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія : Біологія.* 2010. № 4(45). С. 127–131.
15. Zhukorskyi O.M., Tkachuk N.P., Hulai O.V., Hulai V.V. Experimental ecological research on the relationships of pathogenic microorganisms with algae. *Agricultural Science and Practice.* 2019. Vol. 6. № 3. P. 56–62.
16. Сиренко Л.А., Сакевич А.И., Осипов Л.Ф. Методы физиолого-биохимического исследований в гидробиологической практике. Київ, 1975. 247 с.
17. Самострельский А.Ю. Метод прямого счета лептоспир в определенном объеме. *Лабораторное дело.* 1966. № 2. С. 105–108.
18. Спосіб виготовлення камер для підрахунку лептоспір. пат. 50075. Україна: МПК А61В19/00. № у 200911987; заявл. 23.11.2009; опубл. 25.05.2010, Бюл. № 10. 4 с.