

## КЛИНИЧЕСКИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Теличева В.О.<sup>1</sup>, Нагорный С.А.<sup>1</sup>, Ермакова Л.А.<sup>1</sup>, Корниенко И.В.<sup>1,2</sup>, Хоронько Е.Ю.<sup>3</sup>, Киртанасова Е. Я.<sup>3</sup>

### ОПТИМИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ ЭХИНОКОККОЗОВ

<sup>1</sup>ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, 344000, г. Ростов-на-Дону, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН «Федеральный исследовательский центр Южный научный центр РАН», 344006, г.Ростов-на-Дону, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», 344021, г. Ростов-на-Дону, Россия

*Эхинококкозы человека широко распространены во многих странах и являются серьёзной медицинской и социально-экономической проблемой независимо от уровня благополучия государства. Одними из основных рисков диагностических ошибок и ошибок при дифференциальной диагностике эхинококкозов являются длительный бессимптомный период и активные процессы миграции населения.*

*Методы прямой диагностики эхинококкозов остаются «золотым стандартом», но требуют высокой квалификации специалистов лабораторий. Окончательный диагноз эхинококкозов устанавливается на основании результатов патологоанатомических исследований биологического материала. В биологическом материале, полученном при хирургическом вмешательстве, личинки гельминтов могут отсутствовать или содержаться в критически малом количестве, что может вести к ошибкам при патоморфологическом исследовании. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – прямой метод, обладающий высокой чувствительностью и позволяющий выявлять ДНК минимальных количеств гельминтов в различных биологических субстратах. Для проведения ПЦР-исследований по выявлению ДНК эхинококков нами подобраны и синтезированы 6 пар оригинальных специфических праймеров для фрагмента гена COI митохондриальной ДНК. Разработаны протоколы пробоподготовки и отработаны режимы амплификации для данных пар праймеров с использованием ДНК из материала кист *Echinococcus granulosus* и *E. multilocularis* от пациентов, цист животных, содержащих морфологически идентифицированные личинки. ПЦР в соответствии с предлагаемым протоколом и с разработанными 6 парами праймеров показали высокую чувствительность и специфичность.*

*Исследование биологического материала двумя методами параллельно позволит минимизировать ошибки в диагностике личинок гельминтозов. ПЦР может стать надёжным скрининговым методом индикации гельминтов.*

**Ключевые слова:** эхинококкозы; *Echinococcus granulosus*; *Echinococcus multilocularis*; молекулярно-генетические методы; ПЦР

**Для цитирования:** Теличева В.О., Нагорный С.А., Ермакова Л.А., Корниенко И.В., Хоронько Е.Ю., Киртанасова Е. Я. Оптимизация молекулярно-генетических методов диагностики эхинококкозов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (5): 240-246.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-5-240-246>

**Для корреспонденции:** Теличева Виктория Олеговна, биолог клиники инфекционных и паразитарных болезней; e-mail: [telichevaviktoria@yandex.ru](mailto:telichevaviktoria@yandex.ru)

**Финансирование.** Исследование не имеет спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 07.03.2024

Принята к печати 12.03.2024

Опубликовано 25.04.2024

*Telicheva V.O.<sup>1</sup>, Nagorny S.A.<sup>1</sup>, Ermakova L.A.<sup>1</sup>, Kornienko I. V.<sup>1,2</sup>, Kirtanasova E.Ya.<sup>3</sup>, Khoronko E.Yu.<sup>3</sup>*

### OPTIMIZATION OF MOLECULAR GENETIC METHODS FOR DIAGNOSIS OF ECHINOCOCCOSIS

<sup>1</sup>Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology, Federal Service on Surveillance for Consumer rights protection and human well-being, Rostov-on-Don, Russia;

<sup>2</sup>Federal Research Center Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Rostov-on-Don;

<sup>3</sup>Rostov-on-Don Regional Clinical Hospital No. 2, Rostov-on-Don

*Human echinococcoses are serious medical and socio-economic problem which is common in many countries regardless of the level of welfare of the state. One of the main risks of diagnostic mistakes and errors in differential diagnosis of echinococcoses are the long asymptomatic period and active processes of population migration. Methods for direct diagnosis of echinococcoses remain the "gold standard", but require highly qualified laboratory specialists. The final diagnosis of echinococcoses established on the results of pathological studies of biological material. However, in the biological material obtained during surgery, helminth larvae may be absent or contained in critically small quantities, which can lead to errors in pathomorphological examination. The polymerase*

chain reaction (PCR) is the direct method that is highly sensitive and allows the detection of DNA of minimal quantities of parasitic pathogens in various biological substrates. For PCR studies to detect echinococcal DNA, we selected and synthesized 6 pairs of original specific primer pairs for the COI gene fragment of mitochondrial DNA.

We designed sample preparation protocols and amplification regimes for these primer pairs using DNA from material from cysts of *Echinococcus granulosus* and *E. multilocularis* patients, animal cysts containing morphologically identified larvae. PCR in accordance with the proposed protocol and with the designed 6 pairs of primers showed high sensitivity and specificity.

Research of biological material with two methods in parallel will minimize errors in the diagnosis of larval helminthiasis. PCR can become a reliable screening method for identifying helminths.

**Key words:** echinococcosis; *Echinococcus granulosus*; *Echinococcus multilocularis*; molecular genetic methods; PCR

**For citation:** Telicheva V.O., Nagorny S.A., Ermakova L.A., Kornienko I. V., Kirtanasova E.Ya., Khoronko E.Yu. Optimization of molecular genetic methods for diagnosis of echinococcosis. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (5): 240-246 (in Russ.).

DOI: https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-5-240-246

**For correspondence:** Telicheva V.O., biologist of the Clinic of Infections and Parasitic Diseases, Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology; e-mail: telichevaviktoriya@yandex.ru

Information about authors:

Telicheva V.O., <https://orcid.org/0000-0003-4593-3982>;

Nagorny S.A., <https://orcid.org/0000-0001-8487-2313>;

Ermakova L.A., <https://orcid.org/0000-0002-8918-2271>;

Kornienko I. V., <https://orcid.org/0000-0003-0274-3302>;

Kirtanasova E.Ya., <https://orcid.org/0009-0001-9672-2088>;

Khoronko E.Yu., <https://orcid.org/0000-0001-5261-9620>.

**Financing.** The study had no sponsor support.

**Conflict of interests.** The authors declare absence of conflict of interests.

Received 07.03.2024

Accepted 12.03.2024

Published 25.04.2024

**Введение.** Эхинококкозы человека - тяжело протекающие паразитарные болезни, остающиеся серьёзной медицинской и социально-экономической проблемой во многих странах мира, в том числе в Российской Федерации [1]. Из 4-х видов возбудителей эхинококкозов для России медицинское значение имеют 2 - кистозный (КЭ) эхинококкоз (B67.0-67.4), вызываемый личинками *Echinococcus granulosus sensulato*, и альвеолярный (АЭ) - возбудителем которого является личиночная стадия *Echinococcus multilocularis* (B67.5-67.7). По сути это два паразитарных заболевания, существенно различающиеся по особенностям формирования ларвоцист, клиническим проявлениям, тяжести течения и прогнозу [2,3].

Согласно данным официальной статистики за последние 6 лет (2017-2022 гг.) в Российской Федерации зарегистрировано 2296 случаев кистозного эхинококкоза и 298 случаев альвеолярного эхинококкоза [4].

Клиническая картина эхинококкозов характеризуется длительным бессимптомным периодом и выраженным полиморфизмом, обусловленным поражением различных органов и систем. При отсутствии своевременной диагностики и адекватной терапии, смертность пациентов с АЭ может составлять более 90% в течение 10-15 лет. Летальность от КЭ значительно ниже - от 2% до 4%, но, в случаях поздней диагностики, может значительно увеличиваться [1]. Летальные исходы от эхинококкозов, обусловленные их поздней диагностикой регистрируются ежегодно практически во всех странах мира, независимо от уровня социально-экономического развития [5,6].

Исследование биологического материала, полученного в результате оперативных вмешательств, представляет особую сложность для специалистов патоморфологов вне эндемичных регионов, при атипичных

локализациях кист. Ошибки патоморфологической диагностики могут вести к увеличению рецидивных форм, выбору неверной тактики ведения больных и летальному исходу [7]. Актуальными являются исследования, направленные на оптимизацию методов лабораторной диагностики эхинококкозов.

**Цель** - разработка молекулярно-генетических методов диагностики эхинококкозов.

**Материал и методы.** Нами подобраны и синтезированы 6 пар оригинальных специфичных праймеров на фрагмент гена *COI* митохондриальной ДНК: 2 пары для выявления ДНК обоих значимых для человека эхинококков; 2 пары для выявления ДНК *E. granulosus* и 2 пары для выявления ДНК *E. multilocularis* (табл. 1).

Подбор праймеров осуществляли на основе известных последовательностей видов *E. granulosus* и *E. multilocularis*, представленных в базе данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), при помощи программного обеспечения «BioeditSequenceAlignment Editor» (версия 7.2.5). Полученные последовательности всех пар праймеров протестированы на специфичность с помощью онлайн ресурса «NCBI BLAST» (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Химический синтез олигонуклеотидов заданной структуры и концентрации осуществляли в ООО «НПФ СИНТОЛ».

Для оценки чувствительности и специфичности разработанных праймеров использованы 14 образцов биологического материала: 8 образцов содержимого эхинококковых кист от разных больных людей, 4 эхинококковые цисты от животных (овцы) и гистологические препараты от 2 больных, оперированных по поводу альвеококкоза. Наличие протосколексов во всех образцах подтверждено морфологически путем прямой микроскопии биологического материала (рис. 1).

Таблица 1

Характеристика разработанных праймеров

Возбудитель	Обозначение праймера	Последовательность	Вес (п.н.)
<i>Echinococcus</i> spp.	e1	F: 5'-CGTGATGCTGTTAACTTCAA-3' R: 5'-CAATTTACTATATCAAAGTAAACCT-3'	156
	e2	F: 5'-AAGACGGAAAGACCCTAGGA-3' R: 5'-TCAACATCGAGGTGGCAAAC-3'	173
<i>E. granulosus</i>	g1	F: 5'-GGTCATTATTCGGCGGTGA-3' R: 5'-CGTAAATAAATAATCACCA-3'	108
	g2	F: 5'TAGTGAGTATTATGAATTTGTCT-3' R: 5'-CGCGAAATAACACCAAACCCCT-3'	85
<i>E. multilocularis</i>	m1	F: 5'-AGACATATTTTGGTGGTTC-3' R: 5'-TGTACACAAATAATCACCA-3'	111
	m2	F: 5'AAGTGAGTACTACGAATTTTCTA-3' R: 5'AGCAAAATAACACCAGAAAATT-3'	85

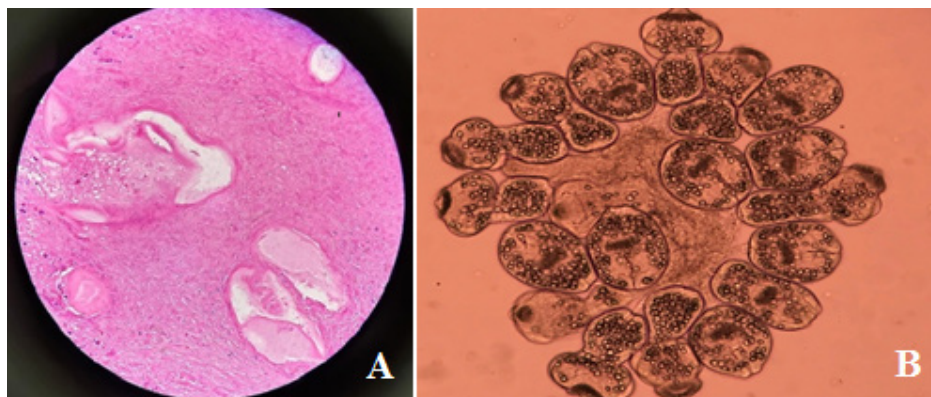


Рис. 1. Протосколексы. А - *E. multilocularis* в гистологическом препарате (окраска гематоксилином и эозином, ув. х400); В - *E. granulosus* из содержимого эхинококковой кисты, нативный препарат (ув. х400).

Таблица 2

Количество проведенных исследований различных видов биологического материала, содержащего ДНК возбудителей эхинококкозов, с разработанными парами праймеров

Биологический материал	Число исследованных образцов	Число синтезированных праймеров	Число повторностей опыта с каждой парой праймеров	Количество выполненных исследований
Эхинококковые кисты больных	8	6	4	192
Альвеококковые образования	2	6	4	48
Цисты овец	4	6	4	96
Всего	14	6	4	336

Все образцы исследовались в 4 повторностях с каждым из шести вариантов праймеров (табл. 2). К оригинальным парам праймеров разработаны протоколы пробоподготовки и режимы амплификации.

Для выделения ДНК гельминтов использован коммерческий набор М-Сорб-кровь (СИНТОЛ) с добавлением протеиназы К (концентрация 10 мг/мл, 7 мкл на пробу) и ДТТ (1М, 5 мкл на пробу). Лизис биологического материала проводили в течение 12 часов при температуре +60 °С в условиях перемешивания содержимого пробирок (Thermo-Shaker TS-100, BioSan), далее выделение ДНК производилось согласно прилагаемой

инструкции к набору М-Сорб-кровь (СИНТОЛ).

Приготовление ПЦР смеси для проведения реакции осуществлён с использованием набора реагентов для проведения ПЦР-РВ в присутствии EVAGreen (СИНТОЛ). Расчёт реактивов смеси на 1 пробу: 10-кратный ПЦР буфер с EVAGreen - 2,5 мкл; 25 мМ MgCl<sub>2</sub> - 2,5 мкл; 2,5 мМ dNTP - 2,5 мкл; Праймер F (1 О.Е.) - 1 мкл; Праймер R (1 О.Е.) - 1 мкл; ДНК-Тaq-полимераза (5 Ед/мкл) - 0,3 мкл, деионизованная вода - 12,2 мкл. Итого 22 мкл реакционной смеси и 3 мкл исследуемой ДНК на 1 пробу. Конечный объём инкубационной смеси составил 25 мкл на 1 пробу.

Амплификацию проводили с помощью прибора ДТ-96 (ДНК-Технология, Россия). Скорость нагревания/охлаждения (Ramp) выбиралась по умолчанию.

Обработку условий амплификации для данных пар праймеров проводили с использованием ДНК из материала от больных *E. granulosus* и *E. multilocularis*, содержащего морфологически идентифицированные

личинки. Амплификацию проводили при температуре отжига 55 °С. Программа энзиматической амплификации представлена в табл. 3. Электрофорез проводили в течение 20 минут при напряжённости электрического поля 140 В/см. Продукты ПЦР анализировали в 2% агарозном геле в присутствии маркера молекулярных масс.

Таблица 3

Условия амплификации согласно протоколу

Стадия	Температура, °С	Время	Число циклов
Начальная денатурация	95	5 мин	1
Денатурация	95	10 с	45
Отжиг праймеров	55	10 с	
Удлинение	72	30 с	
Достройка	60	10 с	61
Хранение	10		1

**Результаты.** Все 6 пар праймеров показали удовлетворительную чувствительность и высокую специфичность. Праймеры e1 и e2 дали положительные результаты со все-

ми образцами, содержащими ДНК эхинококков. Однако положительные результаты зарегистрированы на более ранних циклах при использовании праймеров e2 (рис. 2).

Номер	Идентификатор	Ср.	Ср.	Результат
A1	e1 test <i>E. multilocularis</i>	40.2		+
A2	e1 test <i>E. multilocularis</i>	40.1		+
A3	e1 test <i>E. granulosus</i>	33.9		+
A4	e1 test <i>E. granulosus</i>	34.1		+
A5	e1 K-			нд
A6	e2 test <i>E. multilocularis</i>	28.0		+
A7	e2 test <i>E. multilocularis</i>	26.4		+
A8	e2 test <i>E. granulosus</i>	26.3		+
A9	e2 test <i>E. granulosus</i>	26.1		+
A10	e2 K-			нд

Рис. 2. Результаты анализа ПЦР «в реальном времени» для *E. granulosus* и *E. multilocularis*, полученные с помощью прибора ДТ-96 (ДНК-Технология, Россия).

При применении праймеров g1 и g2 положительные результаты получены в образцах, содержащих ДНК *E. granulosus* и отрицательные в пробах, содержащих *E.*

*multilocularis*. Положительные результаты зарегистрированы на более ранних циклах ПЦР-РВ при использовании праймеров g2 (рис. 3).

Номер	Идентификатор	Ср.	Ср.	Результат
A11	g1 test <i>E. multilocularis</i>			нд
A12	g1 test <i>E. multilocularis</i>			нд
B1	g1 test <i>E. granulosus</i>	28.1		+
B2	g1 test <i>E. granulosus</i>	27.7		+
B3	g1 K-			нд
B4	g2 test <i>E. multilocularis</i>			нд
B5	g2 test <i>E. multilocularis</i>			нд
B6	g2 test <i>E. granulosus</i>	24.2		+
B7	g2 test <i>E. granulosus</i>	24.3		+
B8	g2 K-			нд

Рис. 3. Результаты анализа ПЦР «в реальном времени» для *E. granulosus*, полученные с помощью прибора ДТ-96 (ДНК-Технология, Россия).



При использовании праймеров m1 и m2 положительные результаты получены только в пробах, содержащих протосколексы *E. multilocularis*. Прай-

меры m1 показали положительные результаты на более ранних циклах ПЦР-РВ, чем праймеры m2 (рис.4).

Номер	Идентификатор	Ср.	Ср.	Результат
B9	m1 test <i>E.multilocularis</i>	25.9		+
B10	m1 test <i>E.multilocularis</i>	26.2		+
B11	m1 test <i>E.granulosus</i>			НП
B12	m1 test <i>E.granulosus</i>			НП
C1	m1 к-			НП
C2	m2 test <i>E.multilocularis</i>	29.5		+
C3	m2 test <i>E.multilocularis</i>	30.7		+
C4	m2 test <i>E.granulosus</i>			НП
C5	m2 test <i>E.granulosus</i>			НП
C6	m2 к-			НП

Рис. 4. Результаты анализа ПЦР «в реальном времени» для *E. multilocularis*, полученные с помощью прибора ДТ-96 (ДНК-Технология, Россия).

Анализ результатов 336 исследований показал, что праймеры для *E. granulosus* и *E.multilocularis* дали положительный результат во всех пробах. Праймеры для *E. granulosus* дали положительный результат в 192

образцах из кист больных людей и цист животных. Праймеры для *E. multilocularis* дали положительный результат в 32 пробах материала от больных альвеококкозом (табл. 4).

Таблица 4

Результаты исследования методом ПЦР биологического материала, содержащего ДНК возбудителей эхинококкозов

Праймеры	Эхинококковые кисты, цисты (12 образцов в 4 повторностях)		Альвеококковые образования (2 образца в 4 повторностях)	
	Положительный результат	Отрицательный результат	Положительный результат	Отрицательный результат
Праймеры к <i>Echinococcus</i> spp. (e1, e2)	96	0	16	0
Праймеры к <i>E. granulosus</i> (g1, g2)	96	0	0	16
Праймеры к <i>E. multilocularis</i> (m1,m2)	0	96	16	0

Оптимальными выбраны праймеры e2, g2 и m1, при применении которых положительные результаты наблюдались на более ранних циклах в ПЦР-РВ. На данные пары праймеров получен патент [8].

Для подтверждения видовой принадлежности полученные ПЦР продукты верифицировали электрофорезом в 2% агарозном геле (рис. 5), секвенировали с использованием разработанных праймеров (рис. 6) и отсекали последовательности проверили в базе нуклеотидных последовательностей GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>).

**Обсуждение.** Проблема эхинококкозов актуальна во всем мире, однако наиболее неблагоприятная эпидемиологическая и эпизоотическая ситуация сохраняется в странах Азии, Ближнего Востока, Закавказья [1,6,9]. Это связано с тем, что на протяжении веков в этих регионах активно развивалось животноводство, проходили торговые пути, многочисленные войны, предполагаю-

щие миграцию большого количества людей, домашних и диких животных [10].

Результаты исследований с использованием метода ПЦР для выявления ДНК эхинококков в различных биологических объектах представлены в литературе специалистами из Ирана, Китая, Турции, Италии, Финляндии. Для получения праймеров использованы последовательности митохондриальных генов эхинококка из-за стабильности данного участка генома [11 - 13]. Предложенные исследователями праймеры широко применяются для эпизоотологического и эпидемиологического мониторинга эхинококкозов. При анализе отечественных данных литературы нам не удалось обнаружить исследований, посвященных разработке праймеров для обнаружения генетического материала эхинококков. В небольшом числе публикаций упоминаются фрагменты нуклеотидных последовательностей из GenBank.

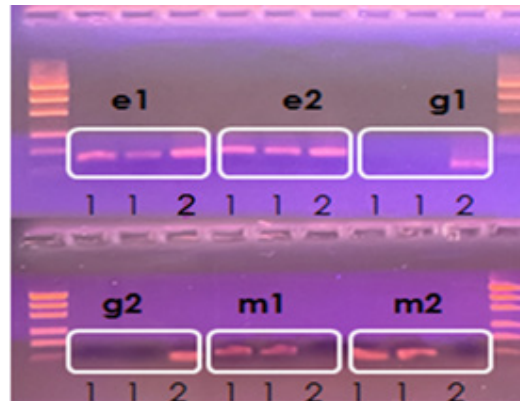


Рис. 5. Электрофорез в агарозном геле с праймерами к *E. granulosus* (e1, e2); *E. granulosus* (g1, g2) и *E. multilocularis* (m1, m2). Проба 1 – продукты ПЦР, полученные из биологического материала больной альвеококком. Проба 2 – продукты ПЦР, полученные из содержимого эхинококковой кисты.

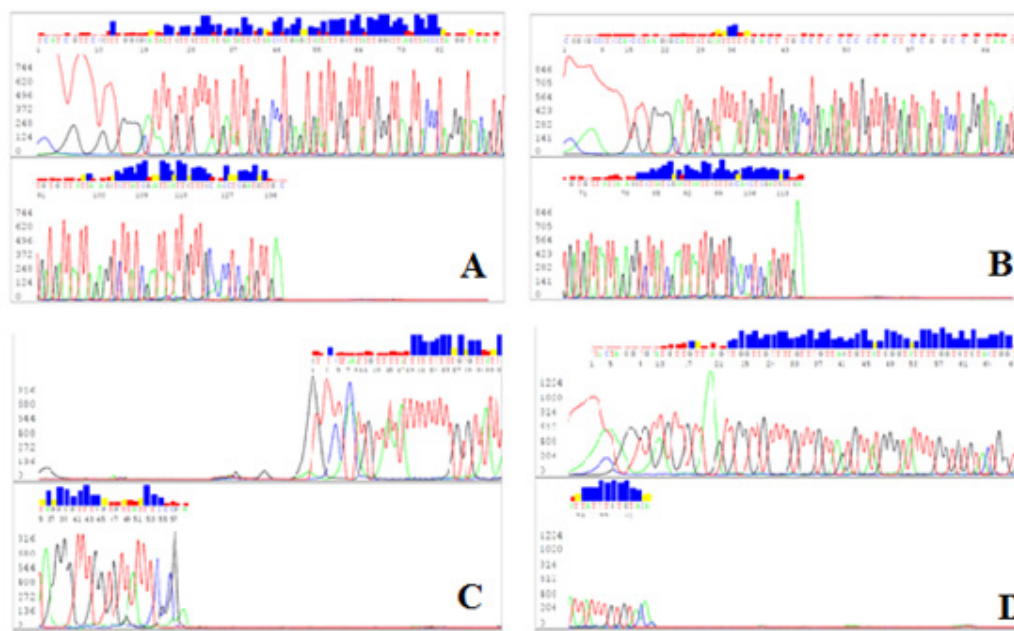


Рис. 6. Результаты секвенирования: А - с прямым праймером e2 и ДНК *E. granulosus*, В - с прямым праймером e2 и ДНК *E. multilocularis*, С - с прямым праймером g2 и ДНК *E. granulosus*, D - с прямым праймером m1 и ДНК *E. multilocularis*.

Нами разработаны и синтезированы оригинальные специфичные пары праймеров для выявления ДНК обоих видов эхинококков (*E. granulosus* и *E. multilocularis*), *E. granulosus*, *E. multilocularis*, позволяющие достоверно идентифицировать гельминтов из любого патологического материала. В отечественной литературе данные о генетическом разнообразии возбудителей эхинококкозов представлены скудно [14]. Диагностика эхинококкозов в практическом здравоохранении основана на инструментальных исследованиях (ультразвуковых, рентгенологических, компьютерной томографии, магнитно-резонансной томографии) [15]. В Российской Федерации одним из основных лабораторных методов остается серологическая диагностика, направленная на выявление специфических иммуноглобулинов класса IgG к *E. granulosus*, коммерческие тест-системы с целью выявления специфических антител для выяв-

ления *E. multilocularis* не зарегистрированы. Ряд исследователей сообщают об эффективности иммунного блоттинга для дифференциальной диагностики эхинококкозов [16]. Однако последний отличается высокой стоимостью тест-системы. Каждый из представленных методов имеет те или иные ограничения и требует наличия специальных навыков и знаний исследователей, особенно вне эндемичных территорий.

Окончательный диагноз эхинококкозов устанавливается на основании результатов патологоанатомических исследований биологического материала. Однако, в направленном на исследование биологическом материале личинки гельминтов могут отсутствовать или содержаться в критически малом количестве, что может привести к недостоверному патологоанатомическому заключению. Применение метода ПЦР со специфичными праймерами и стандартизованным протоколом

проведения исследования позволит в подобных случаях избежать ошибок диагностики.

**Заключение.** Поиск дополнительных методов диагностики эхинококкозов остается актуальным. Молекулярно-генетические методы, как прямые методы диагностики, целесообразно использовать в качестве скринингового метода исследования биологического материала при подозрении на эхинококкозы в дополнение к морфологическим (паразитологическим). Разработанные нами праймеры обладают высокой чувствительностью и специфичностью и могут стать основой для коммерческой тест-системы для диагностики эхинококкозов.

---

ЛИТЕРАТУРА (П.П. 1, 4-7, 9-13, 15 С.М.  
REFERENCES)

2. Бессонов А.С. Цистный эхинококкоз и гидатидоз. М.: Локус Станди; 2007.
3. Ермакова Л.А., Черникова М.П., Козлов С.С. Эпидемиологические аспекты эхинококкозов в Российской Федерации. *Журнал инфектологии*. 2023; 15 (2): 41. [https://www.elibrary.ru/download/elibrary\\_53763120\\_53815896.pdf](https://www.elibrary.ru/download/elibrary_53763120_53815896.pdf).
8. Теличева В.О., Нагорный С.А., Корниенко И.В., Ермакова Л.А., Хоронько Ю.В., Хоронько Е.Ю. Способ выделения ДНК эхинококкозов *Echinococcus granulosus* и *Echinococcus multilocularis* методом полимеразной цепной реакции. Патент РФ № 2807745; 2023.
14. Лукманова Г.И., Мухаметханов Н.Х., Гумеров А.А., Нартайлаков М.А., Биалалов Ф.С., Габидуллин Ю.З. и др. Способ идентификации возбудителя цистного эхинококкоза в биологическом образце. Патент РФ № 2332465 С1; 2008.
16. Головченко Н.В., Ермакова Л.А., Козлов С.С. Роль иммунологических методов в диагностике эхинококкозов и токсокароза. *Журнал инфектологии*. 2023; 15 (2): 27-8. [https://www.elibrary.ru/download/elibrary\\_53763120\\_53815896.pdf](https://www.elibrary.ru/download/elibrary_53763120_53815896.pdf).
4. Woolsey I. D., Miller A. L. *Echinococcus granulosus* sensu lato and *Echinococcus multilocularis*: A review. *Research in veterinary science*. 2021;135:517-22. DOI: 10.1016/j.rvsc.2020.11.010.
5. Belhassen-García M., Romero-Alegria A., Velasco-Tirado V., Alonso-Sardón M., Lopez-Bernus A., Alvela-Suarez A. et al. Study of hydatidosis-attributed mortality in endemic area. *PLoS One*. 2014 ; 9(3): e91342. DOI: 10.1371/journal.pone.0091342 . PMID: 24632824; PMCID: PMC3954695.
6. Khachatryan Anna S. Analysis of lethality in echinococcal disease. *The Korean journal of parasitology*. 2017; 55(5): 549. DOI: 10.3347/kjp.2017.55.5.549.
7. Dezsényi B., Dubóczki Z., Strausz T., Csulak E., Czoma V., Káposztás Z et al.. Emerging human alveolar echinococcosis in Hungary (2003–2018): a retrospective case series analysis from a multi-centre study. *BMC Infectious Diseases*. 2021; 21 (1): 1-15. DOI: 10.1186/s12879-021-05859-5.
8. Teličeva V.O., Nagorny S.A., Kornienko I.V., Ermakova L.A., Khoronko Yu. V., Khoronko E.Yu. Method for isolating DNA of *Echinococcus granulosus* and *Echinococcus multilocularis* using the polymerase chain reaction method. Patent RF No. 2807745; 2023. (in Russian)
9. Mustapayeva A., Luca D'Alessandro G., Doszhanova G., Colpani A., Sadybekov, N., Baimakhanov Z. et al.. Ultrasound-based evaluation of abdominal cystic echinococcosis in the Turkestan region of Kazakhstan . Ultrasound-based evaluation of the prevalence of abdominal cystic echinococcosis in the Turkestan region of Kazakhstan, *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2022; 116(3): 222-6. DOI: 10.1093/trstmh/tra105.
10. Yeh H. Y., Mao R., Wang H., Qi W., Mitchell P. D. Early evidence for travel with infectious diseases along the Silk Road: Intestinal parasites from 2000 year-old personal hygiene sticks in a latrine at Xuanquanzhi Relay Station in China. *Journal of Archaeological Science: Reports* 9. 2016; 9: 758-64. DOI: 10.1016/j.jasrep.2016.05.010.
11. Guo B., Zhang Z., Zheng X., Guo Y., Guo G., G., Zhao, L. et al. Prevalence and molecular characterization of *Echinococcus granulosus* sensu stricto in Northern Xinjiang, China . *The Korean Journal of Parasitology*. 2019; 57(2): 153. DOI: 10.3347/kjp.2019.57.2.153.
12. Mehmood N., Muqaddas H., Ullah M. I., Saarma U., Varcasia A. Genetic structure and phylogeography of *Echinococcus granulosus* sensu stricto genotypes G1 and G3 in Pakistan and other regions of the world based on nad5 gene. *Infection Genetics and Evolution*. 2022; 98: 105223. DOI: 10.1016/j.meegid.2022.105223.
13. Shang J. Y., Zhang G. J., Liao S., Huang Y., Yu W. J., He W. et al. A multiplex PCR for differential detection of *Echinococcus granulosus* sensu stricto, *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus canadensis* in China. *Infectious diseases of poverty*. 2019; 8(4): 49-56. DOI: 10.1186/s40249-019-0580-2.
14. Lukmanova G.I., Mukhametkhanov N.Kh., Gumerov A.A., Nartailakov M.A., Bilalov F.S., Gabidullin Yu.Z. et al. Method for identifying the causative agent of cystic echinococcosis in a biological sample. Patent RF No. 2332465 С1; 2008. (in Russian)
15. *Echinococcosis*. WHO; 2021. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/echinococcosis> .
16. Golovchenko N.V., Ermakova L.A., Kozlov S.S. The role of immunological methods in the diagnosis of echinococcosis and toxocarosis. *Zhurnal infektologii*. 2023; 15 (2)Suppl. 2: 27-8. DOI: [https://www.elibrary.ru/download/elibrary\\_53763120\\_53815896.pdf](https://www.elibrary.ru/download/elibrary_53763120_53815896.pdf) . (in Russian)

---

REFERENCES

1. Wen H., Vuitton L., Tuxun T., Li J., Vuitton D. A., Zhang W. et al. Echinococcosis: advances in the 21<sup>st</sup> century. *Clinical microbiology reviews*. 2019; 32(2). DOI: 10.1128/cmr.00075-18.
2. Bessonov A.S. Cystic echinococcosis and hydatidosis. Moscow: Lokus Standi; 2007. (in Russian)
3. Ermakova L.A., Chernikova M.P., Kozlov S.S. Epidemiological aspects of echinococcosis in the Russian Federation. *Zhurnal infektologii*. 2023; 15 (2): 41. [https://www.elibrary.ru/download/elibrary\\_53763120\\_53815896.pdf](https://www.elibrary.ru/download/elibrary_53763120_53815896.pdf). (in Russian)