

УДК: 616-093/-098 +616.995.1

ОЦЕНКА ЗНАЧИМОСТИ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА ПРИ ДИАГНОСТИКЕ ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ С ПОЗИЦИЙ ДОКАЗАТЕЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ

Н.В. Головченко¹, О.Б. Костенич¹, А.А. Ширинян¹, Г.В. Гопаца²,
А.П. Коваленко²

¹ ФБУН Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора, г. Ростов, Россия

² ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ростов, Россия

Представлены результаты оценки эффективности иммуноферментного анализа для диагностики паразитарных инвазий, актуальных для юга России (лямблиоз, описторхоз, токсокароз, эхинококкоз, дирофиляриоз). На основании ретроспективного анализа 1856 медицинских карт пациентов клиники инфекционных и паразитарных болезней ФБУН Ростовского научно-исследовательского института микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора с применением метода доказательной медицины определили показатели чувствительности, специфичности, точности наиболее широко применяемых тест-систем для выявления специфических иммуноглобулинов к возбудителям паразитарных болезней. Обоснована целесообразность применения иммуноферментного анализа для диагностики ларвальных гельминтозов.

Ключевые слова: иммуноферментный анализ, лямблиоз, описторхоз, токсокароз, эхинококкоз, дирофиляриоз

EVALUATION OF ELIZA SIGNIFICANCE IN PARASITIC DISEASES DIAGNOSIS FROM THE PERSPECTIVE OF EVIDENCE-BASED MEDICINE

N.V. Golovchenko¹, O.B. Kostenich¹, A.A. Shirinyan¹, G.V. Gopatsa², A.P. Kovalenko²

¹ FBIS Rostov scientific research institute of microbiology and parasitology of the Federal service for surveillance on consumers rights protection and human wellbeing (Rospotrebnadzor), Rostov-on-Don, Russia;

² FSBEI HI Rost SMU of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 344000, Rostov-on-Don, Russia

The research presents results of enzyme-linked immunosorbent assay (ELIZA) efficiency evaluation in diagnosis of parasitological invasions that are current for the south part of the Russian Federation (lambliosis, opisthorchosis, toxocarosis, echinococcosis, dirofilariasis). A retrospective analysis of 1856 medical records of patients treated in the clinic of infectious and parasitological diseases of the FBIS "Rostov scientific research institute of microbiology and parasitology" of the Rospotrebnadzor with implementation of evidence-based medicine methods was conducted. Research included evaluation of sensitivity, specificity and accuracy of most popular testing kits for detection of specific immunoglobulins to parasites. Implementation of ELIZA technique for diagnosis of larva helminthiasis was justified.

Key words: enzyme-linked immunosorbent assay (ELIZA), lambliosis, opisthorchosis, toxocarosis, echinococcosis, dirofilariasis

Введение

Выбор метода лабораторной диагностики является важнейшим инструментом верификации диагноза при паразитарных инвазиях [13]. Одним из наиболее популярных методов лабораторной диагностики инфекционных болезней является иммуноферментный анализ (ИФА). В сравнении с ранее применявшимися методами агглютинации и преципитации ИФА обладает рядом преимуществ (менее трудоемок и менее продолжителен по времени, удобен для выполнения большого количества однотипных анализов и т.д.) [7, 10], что определило широкое применение ИФА во всех областях медицины [1]. В последние годы врачи клинических специальностей для обследования больных приме-

няют иммунологические тесты, заменяя ими прямые методы обнаружения возбудителей паразитарных болезней и считая их равноценными по диагностической ценности. До настоящего времени «золотым стандартом» диагностики большинства паразитарных инвазий является паразитоскопическое исследование: макроскопическое исследование фрагментов или самих паразитов, микроскопия биологических сред с использованием специальных методов исследования материала [2, 13].

При интерпретации результатов серологических исследований врачи часто не принимают во внимание, что последние имеют ряд естественных ограничений [17], как-то: генетическая неоднородность населения, наличие лиц с низким уровнем антителообразования на антигены паразита или же перекрестные реакции с антигенами человека и возбудителя, наличие у паразитов механизмов защиты от иммунного ответа хозяина (молекулярная мимикрия, изменение состава антигенов) [13].

Целью настоящей работы явилась оценка значимости иммуноферментного анализа для диагностики наиболее актуальных для Российской Федерации паразитарных инвазий с позиций доказательной медицины.

Материалы и методы

Для реализации поставленной цели мы провели ретроспективный анализ 1856 медицинских карт пациентов клиники инфекционных и паразитарных болезней ФБУН «Ростовского научно-исследовательского института микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора с 2013 по 2017 гг.

При проведении ретроспективного анализа использовались следующие показатели:

1. Результаты клинического исследования (анамнез заболевания, жалобы, данные физикального обследования больного).

2. Результаты проведенных лабораторных исследований (общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимические показатели функции печени и поджелудочной железы, копрологические исследования: копрограмма, копроовоскопия с пробоподготовкой методом эфир-формалиновой седиментации, ларвоскопия с использованием модификации метода Бермана, протозооскопия нативного и окрашенного мазков, исследование материала соскоба из перианальных складок, а также иммунологические исследования с целью выявления иммуноглобулинов различных классов к возбудителям паразитарных болезней).

По данным анализа медицинских карт установлено, что у 324 больных по результатам паразитологических исследований кала был верифицирован энтеробиоз, у 202 - лямблиоз, у 44 больных – описторхоз и у 9 - стронгилоидоз. При комплексном обследовании с применением общеклинических, лабораторных и инструментальных методов у 75 пациентов был диагностирован эхинококкоз, у 72 – токсокароз и у 36 - дирофиляриоз. У остальных пациентов были выявлены различные функциональные или органические заболевания желудочно-кишечного тракта, органов дыхания, аллергические реакции различной этиологии, болезни кожи и подкожно-жировой клетчатки и другие состояния. При обследовании 57 пациентов (в основном лиц, контактировавших с больными паразитарными инвазиями) не удалось выявить патологических процессов (табл.1).

Всем пациентам выполнялись общеклинические анализы (общий анализ крови и общий анализ мочи), биохимические (определение билирубина, трансфераз, щелочной фосфотазы, глюкозы крови и общего белка).

Таблица 1.

Структура пациентов клиники в 2013-2017 гг.

Группы обследованных	Число лиц
I. Больные	1799
1. Болезни желудочно-кишечного тракта:	622
Дискинезия желчевыводящих путей	205
Функциональное расстройство желудка	165
Хронический гастрит	82
Язвенная болезнь желудка и 12-ти перстной кишки	18
Хронический холецистит	65
Хронический панкреатит	17
Хронические вирусные гепатиты	10
Синдром раздраженного кишечника	54
Кишечные инфекции.	6
2. Аллергозы:	332
атопический дерматит	145
лейкемоидная реакция эозинофильного типа	104
рецидивирующая крапивница	59
респираторный аллергоз	24
3. Паразитарные болезни:	762
энтеробиоз	324

Группы обследованных	Число лиц
лямблиоз	202
эхинококкоз	75
токсокароз	72
описторхоз	44
дирофиляриоз	36
стронгилоидоз	9
4. Другие заболевания:	83
алопеция	49
Хронический тонзиллит	34
II. Практически здоровые	57
Всего	1856

Специальные методы диагностики кишечных паразитозов включали: метод нативного мазка и мазка, обработанного раствором Люголя и окрашенного методом Циль-Нильсена с кратностью от 3 до 5 раз с интервалом в 1 – 3 – 5 - 10 дней, эфир-формалиновую седиментацию, модификацию метода Бермана по Супряге, 3-х кратный перианальный соскоб с интервалом в 1 день в соответствии с МУК 4.2.3145-13 «Лабораторная диагностика гельминтозов и протозоозов». Для иммуноферментного анализа использовали тест-системы: «Лямблия - АТ - стрип» производства ЗАО «Вектор-Бест» и тест - системы «Описторх-IgM- ИФА-Бест» и «Описторх-IgG- ИФА-Бест», также производства ЗАО «Вектор-Бест», «Токсокара-IgG-ИФА-БЕСТ», «Эхинококк-IgG-ИФА-БЕСТ».

Результаты и их обсуждение

Для оценки диагностической роли ИФА при лямблиозе методом сплошной выборки было проведено комплексное обследование 1856 человек, которые обратились в клинику инфекционных и паразитарных болезней ФБУН Ростов НИИМП Роспотребнадзора, в связи с наличием различных заболеваний, и 57 практически здоровых лиц (табл.1). Всем больным проводили многократное копрологическое исследование на цисты лямблий и параллельно определение в крови специфических антител к лямблиозному антигену методом ИФА. Опираясь на «золотой стандарт» верификации лямблиоза – выявление в кале цист лямблий [2,5,6], мы квалифицировали по данным выявления антител к лямблиозному антигену «истинно положительные» результаты ИФА у 31 из 1856 человек (1,7%), «ложно отрицательные» - у 171 (9,2%), «ложно положительные» - у 492 (26,5%) и «истинно отрицательные» - у 1162 (62,6%).

Полученный цифровой материал был распределен в ячейки четырехпольной таблицы [16] (табл.2), что позволило рассчитать необходимые для объективной оценки диагностической значимости иммуноферментного анализа показатели. Речь идет о «распространенности», «чувствительности», «специфичности» и «прогностической ценности положительных и отрицательных результатов» этого метода.

Таблица 2.

Взаимоотношения результатов обследования лиц на цисты лямблий и определения антител

		Наличие лямблий в кале	
		ДА	НЕТ
Наличие антител к лямблиям	ДА	a (31)	b (492)
	НЕТ	c (171)	d (1162)

Примечание: результаты: a – «истинно положительные»; b – «ложноположительные»; c – «ложноотрицательные»; d – «истинно отрицательные».

«Распространенность» наличия антител к лямблиям в популяции мы рассчитывали по формуле $a+b/a+b+c+d$. Как показали исследования, эта величина оказалась равной $(523/1856) \times 100\%$, т.е. 28,2%, однако, распространенность лямблиоза при использовании математических подсчетов $(a+c/a+b+c+d)$ равна 10,9%, то есть более, чем в два раза меньше чем положительных результатов ИФА. Таким образом, применение исключительно метода ИФА для диагностики лямблиоза может привести к его гипердиагностике и, как следствие, к необоснованному назначению противопротозойных препаратов.

«Чувствительность» ИФА, отражающую долю лиц с положительным результатом теста в популяции страдающих лямблиозом, определяли по другой формуле, а именно: $a/a+c$. По нашим данным, она оказалась равной $(31/202) \times 100\% = 15,3\%$, т.е. крайне низкой.

Важнейшим критерием диагностической значимости метода является и такой показатель, как «специфичность», который отражает долю лиц с отрицательным результатом теста в популяции людей, у которых лямблии не были обнаружены. «Специфичность» ИФА мы рассчитывали по формуле $- d/b+d$, оказалась равной $(1162/1654) \times 100\% = 70,3\%$.

Вероятность наличия заболевания при условии известного результата теста называется «прогностической ценностью». «Прогностическая ценность положительного результата» – это вероятность заболевания при положительном (патологическом результате) теста, «прогностическая ценность отрицательного результата» – вероятность отсутствия заболевания при отрицательном (нормальном) результате теста.

Знание прогностической ценности теста позволяет врачу получить ответ на вопрос: «Каковы шансы, что данный пациент страдает или не страдает определенным заболеванием, если у него результаты теста положительны или отрицательны?» [16].

Расчет показателей прогностической ценности положительных результатов мы провели по формуле $- a/a+b$, а отрицательных $- c/c+d$. Были получены цифровые показатели, равные в первом случае $31/31+492 \times 100\% = 5,9\%$, а во втором случае $171/171+1162 \times 100\% = 87,2\%$. Иными словами вероятность дать врачу надежное заключение ничтожно.

Для оценки эффективности диагностического теста в целом можно использовать и такой показатель, как «точность». Он характеризует долю правильных результатов теста в общем количестве результатов как положительных, так и отрицательных, и рассчитывается по формуле $- a+d/a+b+c+d$. «Точность» скринингового нами метода оказалась равной

$$(31+1162)/(31+492+171+1162) \times 100\% = 64,3\%$$

т.е. незначительно выше, чем при использовании фактора случайности.

Для оценки диагностической значимости ИФА с описторхозным антигеном в качестве «золотого стандарта» мы использовали метод эфир-формалиновой седиментации фекалий больных [15]. Диагноз описторхоз был установлен 44 больным клиники. Исследование сыворотки крови больных проводили с целью выявления специфических иммуноглобулинов М и G с помощью коммерческих тест – систем производства ЗАО «Вектор-Бест». Для определения показателей распространенности, чувствительности, специфичности, прогностической ценности положительных и отрицательных результатов, а также точности данного метода, полученные результаты мы также распределили в четырехпольную таблицу (табл. 3).

Таблица 3.

Взаимоотношения результатов обследования лиц на яйца описторхисов и определения антител

		Наличие описторхисов в кале	
		ДА	НЕТ
Наличие антител к описторхисам	ДА	a (42)	b (112)
	НЕТ	c (2)	d (1700)

Примечание: результаты: a – «истинно положительные»; b – «ложноположительные»; c – «ложноотрицательные»; d – «истинно отрицательные».

Результат анализа показал, что «распространенность» наличия антител к описторхисам в популяции составила 2,3%. Несмотря на то, что на Нижнем Дону есть условия для циркуляции возбудителя описторхоза и рисков заражения данным гельминтозом, местные случаи заболевания людей описторхозом крайне редки [4]. В основном регистрируются случаи завозной инвазии у лиц, прибывших из территорий высокого уровня эндемии – Тюменская область, Ханты-Мансийский автономный округ и др. Таким образом, полученный результат отражает реальную эпидемиологическую ситуацию по описторхозу на территории юга России.

«Чувствительность» ИФА с описторхозным антигеном составила 95,5%. «Специфичность» этих тест - систем по нашим расчетам оказалась равна 93,8%. По нашим данным «точность» ИФА с описторхозным антигеном оказалась равной 94,0%, то есть достаточно высокой.

Актуальной проблемой здравоохранения юга России являются геогельминтозы и, в первую очередь, токсокароз за счет интенсивной контаминации объектов окружающей среды жизнеспособными яйцами *Toxocara canis* [3]. Трудности в диагностике токсокароза обусловлены разнообразием клинических проявлений, отсутствием патогномичных симптомов инвазии и прямых методов диагностики, предполагающих выполнение пункционной биопсии эозинофильных инфильтратов паренхиматозных органов с целью обнаружения личинок токсокар. С учетом того, что подавляющее большинство больных токсокарозом – дети младше 5 лет, применение инвазивных методов диагностики относительно доброкачественного ларвального гельминтоза не приемлемы в клинической практике. В среднем доля токсокароза среди паразитарных инвазий по данным медицинских карт больных клиники, составляла 9,4%. Из них более 80,0% - дети раннего возраста (до 5 лет). Проблемой диагностики токсокароза на юге России также является значительная доля серопозитивных лиц за счет тесного контакта с объектами окружающей среды (почва, овощи, ягоды, зелень и т.д.), интенсивно контаминированными яйцами токсокар [7].

Для диагностики токсокароза использовались клинические и все лабораторные методы, включая ИФА с токсокарозным антигеном. По нашим данным, из 72 пациентов клиники паразитарных болезней, больных токсокарозом, только у 1 (1,4%) ребенка был зарегистрирован отрицательный результат ИФА при уровне эозинофилии 45%. Коэффициент позитивности оптической плотности сыворотки (КПОПС), т.е. отношение оптической плотности исследуемого образца к пороговому значению специфических иммуноглобулинов класса G (IgG), равный 3,1 отмечался у 8 человек (11,1%). Однако, уровень эозинофилии периферической крови у них колебался от 8% до 50%. У 12 (16,7%) больных с эозинофилией от 11% до 40% регистрировался КПОПС – 4,5. Данный показатель, равный 7,5, был отмечен у 25 пациентов (34,7%), уровень эозинофилии в этой группе больных варьировал от 8% до 40%. У 22 лиц (30,6%) регистрировался КПОПС более 10, при уровнях эозинофилии от 7% до 65%. У 5 (6,9%) больных с КПОПС более 12 эозинофилия периферической крови колебалась от 12% до 69%. Достоверной зависимости уровня специфических антител от выраженности клинических проявлений инвазии и эозинофилии периферической крови не наблюдалось. Отсутствие корреляции этих показателей вполне объяснимо с клинической точки зрения, так как известно, что уровень антител класса G (как и при трихинеллезе) [14] больше зависит от срока инвазии, и в ранний период при выраженных клинических проявлениях, сопровождающихся высоким уровнем эозинофилии, уровень специфических антител может быть ниже так называемых «диагностических». Таким образом, предлагаемый производителями в инструкциях к тест-системам вариант интерпретации анализа ИФА с токсокарозным антигеном на основе «коэффициента позитивности оптической плотности» с клинической точки зрения необоснован. Однако следует отметить, что положительный результат ИФА с токсокарозным антигеном, как и эозинофилия периферической крови, оказались наиболее постоянными лабораторными признаками инвазии человека токсокарами.

Для оценки диагностической ценности ИФА с токсокарозным антигеном в качестве «золотого стандарта» мы использовали совокупность клинических и лабораторных данных, а также положительную динамику на фоне проведенной антигельминтной терапии (регресс клинических проявлений и нормализацию показателей периферической крови) (табл.4).

Таблица 4.

Взаимоотношения результатов обследования лиц с эозинофилией и определения антител

		Совокупность клинических и лабораторных данных	
		ДА	НЕТ
Наличие антител к токсокарам	ДА	a (71)	b (425)
	НЕТ	c (1)	d (1358)

Примечание: результаты: a – «истинно положительные»; b – «ложноположительные»; c – «ложноотрицательные»; d – «истинно отрицательные».

В результате математических вычислений «распространенность» IgG, т.е. доля серопозитивных лиц, среди больных клиники составила 26,7 %, а частота заболевания – 3,9 %. Однако, «чувствительность» ИФА с токсокарозным антигеном составила 98,6 %, при «специфичности» - 77,5%. То

есть, «точность»данного теста оказалась равна 77,0 %. Крайне низкими были показатели «прогностической ценности положительного результата» - 14,3 %, и «прогностической ценности отрицательного результата» - 99,9 %.

Кроме того, наблюдение больных в динамике с целью определения длительности сохранения антител при токсокарозе показало, что через месяц после проведенной этиотропной терапии у 65 % больных регистрировалось увеличение КПОПС в 2 и более раз, и в дальнейшем их уровень оставался неизменным при условии отсутствия повторных инвазий в течение, как минимум 2 лет.

Несмотря на то, что дирофиляриоз относят к группе редких гельминтозов человека, в последние годы на ряде территорий Российской Федерации эта инвазия занимает не последнее место в структуре паразитарной патологии человека, в то же время наблюдается расширение ареала распространения дирофиляриоза [12]. Паразитологическая диагностика дирофиляриоза человека основывается на морфологическом или гистологическом исследовании гельминта, удаленного хирургическим путем. При невозможности выполнения хирургического вмешательства альтернативным методом, как и при большинстве тканевых гельминтозов, может быть ИФА, но коммерческая тест-система в Российской Федерации отсутствует.

Для решения вопроса диагностики дирофиляриоза разработан и запатентован способ получения очищенного соматического антигена из неполовозрелых самок *Dirofilaria repens*, удаленных у людей, для выполнения ИФА с целью выявления IgG к *D. repens*.

С целью оценки эффективности работы полученного антигена для диагностики дирофиляриоза в связи со сложностью его получения представилось возможным обследовать только 245 пациентов методом ИФА для выявления IgG к *D. repens*. У 36 пациентов диагноз дирофиляриоз был установлен после оперативного вмешательства и морфологической идентификации гельминта. Остальные 209 человек – условно здоровые лица и больные паразитарными болезнями. Полученный цифровой материал распределен в ячейки четырехпольной таблицы (Табл. 5). «Истинно положительные» результаты ИФА регистрировались у 43 больных, «ложно отрицательные» - у 14, «истинно отрицательные» - у 64 и «ложноположительные» - у 8.

Таблица 5.

Соотношения между результатами ИФА и наличием заболевания

		Больные с удаленным паразитом	
		ДА	НЕТ
Наличие антител к <i>D. repens</i>	ДА	a (27)	b (28)
	НЕТ	c(9)	d (181)

Примечание: результаты: a – «истинно положительные»; b – «ложноположительные»; c – «ложноотрицательные»; d –«истинно отрицательные».

«Чувствительность» иммунологического теста с очищенным соматическим антигеном из неполовозрелых самок *D. repens* оказалась равной 75,0%, а «специфичность» – 86,6%. «Точность» результатов ИФА для диагностики дирофиляриоза человека равнялась 84,9%. «Распространенность» антител IgG к *D. repens* в популяции составила 22,4%. Показатель «прогностической ценности положительного результата» составил 75,0%, а «отрицательного результата» – 95,2%.

Высокие показатели диагностической значимости ИФА с очищенным соматическим антигеном *D. repens* свидетельствуют об его эффективности для диагностики дирофиляриоза у человека.

Актуальным биогельминтозом для Северного Кавказа является эхинококкоз [8, 9]. За период с 2013 по 2017 гг. в клинике паразитарных болезней получали лечебно-диагностическую помощь 75 больных эхинококкозом, в том числе 11 детей в возрасте от 3 до 15 лет (14,7%). Ведущую роль в диагностике гидатидозов играют инструментальные методы (ультразвуковые, рентгенологические исследования), компьютерная и магниторезонансная томографии), однако, объективное значение для прогноза развития рецидивов и эффективности проведенного хирургического и консервативного лечения имеет и иммуноферментный анализ с целью определения специфических IgG к эхинококковому антигену [7]. Из числа больных, обратившихся в клинику инфекционных и паразитарных болезней до хирургического лечения, отрицательные результаты ИФА с эхинококковым антигеном регистрировались у 9 пациентов (42,9%), при этом через месяц после оперативного вмешательства отрицательный результат указанного исследования наблюдался только у 4 пациентов (19,1%), т.е. у 5 больных имел место высокий риск развития рецидива за счет диссеминации протосколексов во время хирургического вмешательства.

Заключение

Генетическая неоднородность населения, наличие лиц с низким уровнем антителообразования на антигены паразита или же перекрестные реакции с антигенами человека и возбудителя определяют ряд естественных ограничений серологических методов [7,17]. В клиническом аспекте циркулирующие антитела имеют относительную диагностическую ценность, поскольку чаще свидетельствуют о перенесенном заболевании, нежели имеющемся в настоящее время, поскольку IgM квалифицируют как короткоживущие антитела [15].

Результаты проведенных исследований на основе методов доказательной медицины показали, что использование ИФА для диагностики лямблиоза в клинической практике не оправдано.

ИФА с описторхозным антигеном обладает достаточно высокой специфичностью и чувствительностью, однако при диагностике описторхоза не может быть альтернативой методу эфирформалиновой седиментации фекалий, в связи с тем, что данный метод не позволяет оценить эффективность антигельминтной терапии, так как у реконвалесцентов длительно сохраняются IgG к описторхисам.

Для верификации эхинококкоза и токсокароза большое значение имеют результаты общеклинического обследования, инструментальной диагностики, однако, по нашим данным, ИФА с токсокарозным и эхинококкозным антигенами обладают достаточной точностью и могут выступать в качестве инструмента скрининговой диагностики ларвальных гельминтозов.

Литература

1. Амбалов Ю.М., Коваленко А.П., Усаткин А.В., Хомченко Л.Н. Патогенетическое и прогностическое значение уровня иммуноглобулинов класса е при рожке // *Врачебное дело*. - 1991. - № 9. - С. 76.
2. Головченко Н.В., Ермакова Л.А., Твердохлебова Т.И., Пшеничная Н.Ю., Гопаца Г.В., Журавлев А.С. Актуальные аспекты лабораторной диагностики паразитарных болезней // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. Актуальные вопросы. - 2017. - № 5. - С. 49-55.
3. Димидова Л.Л., Хроменкова Е.П., Думбадзе О.С., Упырев А.В., Хуторянина И.В. Санитарно-эпидемиологическая оценка качества почвы по паразитологическим показателям // *Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями*. - 2014. - № 15.- С. 87-90.
4. Думбадзе О.С., Ермакова Л.А., Амбалов Ю.М., Твердохлебова Т.И. Случай группового (семейного) заболевания описторхозом на нижнем Дону // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. - 2012. - № 4. - С. 36-38.
5. Ермакова Л.А. Оптимизация диагностики и лечения лямблиоза: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. - М., 2009. - 22 с.
6. Ермакова Л.А., Пшеничная Н.Ю., Амбалов Ю.М., Черникова Е.А. Оценка эффективности многократного копрологического исследования для диагностики лямблиоза // *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. - 2007. - № 4. - С. 32-34.
7. Ермакова Л.А., Твердохлебова Т.И., Пшеничная Н.Ю. Диагностическая значимость иммуноферментного анализа при ларвальных гельминтозах (трихинеллез, эхинококкоз, токсокароз) // *Профилактическая и клиническая медицина*. - 2012. - № 3 (44). - С. 59-63.
8. Ермакова Л.А., Твердохлебова Т.И., Болатчиев К.Х., Цекапизева Ф.К., Киртанасов Я.П., Домашенко Н.Н. Клинические и эпидемиологические аспекты эхинококкоза на некоторых территориях Северного Кавказа // *Цитокины и воспаление*. - 2012. - Т. 11. - № 3. - С. 65.
9. Ермакова Л.А., Твердохлебова Т.И., Нагорный С.А., Пшеничная Н.Ю., Болатчиев К.Х. Анализ заболеваемости человека ларвальными гельминтозами (эхинококкоз, токсокароз, дирофиляриоз) в Российской Федерации // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. - 2017. - Т. 16. - № 1 (92). - С. 43-46.
10. МУК 4.2.3533-18. Иммунологические методы лабораторной диагностики паразитарных заболеваний. - М., - 2018.
11. МУК 4.2.3145 - 13. Лабораторная диагностика гельминтозов и протозоозов. - М., - 2013.
12. Росоловский А.П., Пьяных В.А., Игнатьева В.И., Матина О.Н., Шевчук Е.А., Данилова Е.П., Твердохлебова Т.И., Нагорный С.А., Ермакова Л.А., Криворотова Е.Ю. Дирофиляриоз в Новгородской области // *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. - 2013.- № 1. - С. 34-35.
13. Сергиева В.П., Лобзина Ю.В., Козлова С.С. Паразитарные болезни человека // СПб.: Фолиант, - 2011. - С. 585.
14. Твердохлебова Т.И. Трихинеллез на юге России: эпидемиология, диагностика и профилактика в современных социально-экономических условия: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. - Москва, 2007. - 49 с.
15. Твердохлебова Т.И., Костенич О.Б., Ширинян А.А., Киосова Ю.В., Гопаца Г.В. Клинические и лабораторные показатели при хроническом и остром описторхозе у больных в эндемичных территориях (Ростовская область) // *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. - 2017. - № 33 (33). - С. 22-24.

16. Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. Клиническая эпидемиология // Основы доказательной медицины. М. - Медиа Сфера, - 1998. – С. 352.

17. Шуйкина Э.Е. Аспекты клинической и эпидемиологической иммунологии при паразитарных болезнях // Мед.паразитол. - 1989. - №5. - С. 87-93.

Сведения об авторах:

Ответственный автор: Головченко Наталья Владимировна, врач КЛД клиники инфекционных и паразитарных болезней ФБУН Ростовского научно-исследовательского института микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора, 344000 г. Ростов-на-Дону, пер. Газетный 119, golovchenko.natali.89@mail.ru
