

ПОЛУЧЕНИЕ ИММУНОДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ АНТИГЕНОВ *TOXOCARA CANIS* ДЛЯ СЕРОДИАГНОСТИКИ ТОКСОКАРОЗА У ЧЕЛОВЕКА



И.В. Канина, А.И. Новак, М.Д. Новак, О.В. Евдокимова

ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, г. Рязань, Россия

Резюме. Токсокароз — гельминтозная инвазия человека, имеющая широкий круг хозяев с эпизоотическим распространением. Серопозитивность населения в странах с умеренным климатом составляет около 37%, в регионах с тропическим — до 92%. Практически все возрастные группы населения подвержены риску инвазии токсокарами. Иммунологический метод в настоящее время сохраняет диагностическое значение для токсокароза, так как реакция иммунной системы на гельминтов сопровождается формированием сенсibilизации, а техники и способы отбора клинического материала для выявления миграционной формы токсокароза у человека являются трудоемкими и инвазивными. Цель настоящего исследования — разработка иммунобиологического препарата на основе экскреторно-секреторных антигенов личинок *Toxocara canis* для серодиагностики синдрома larva migrans у человека в реакциях иммуноферментного анализа. Антигены получали из личинок *Toxocara canis* путем культивирования яиц, выделенных из маток самок нематод в питательной среде с глютамином. Очистку препарата от балластных веществ проводили центрифугированием при 8000g в течение 20 минут с последующей фильтрацией через микрофильтрационную мембрану с диаметром пор 0,05–0,15 мкм типа МФАС-П-1 (ЗАО НТЦ «Владипор»). Для выявления антител к токсокарам тестировали сыворотки крови добровольцев — студентов из стран, где частота заболеваемости токсокарозом остается высокой. Для отбора серопозитивных и серонегативных сывороток использовали иммуноферментный анализ с коммерческими антигенами тест-системы «Токсокара-IgG-ИФА-БЕСТ», которую также использовали в качестве контроля. Диагностические антигенные препараты готовили с разной концентрацией белка для исследования серопозитивных сывороток и определения оптимальной дозы антигенного препарата. **Результаты.** В иммуноферментном анализе с использованием стандартной тест-системы из 250 исследованных проб, токсокара-IgG-антитела выявлены в 20 сыворотках (8%), что свидетельствует об антигенной стимуляции иммунной системы гельминтами и, возможно, о ранее перенесенном заболевании. В ИФА с опытными образцами антигенов количество серопозитивных проб коррелировало с концентрацией белка в антигенных препаратах: при концентрации 1,96 мкг/мл выявлено 5,2% положительных результатов, 1,71 мкг/мл — 3,2%, 0,33 мкг/мл — 0,8% (коэффициент корреляции Пирсона = 0,94). Количество серопозитивных сывороток, выявленных коммерческим антигеном стандартной тест-системы ИФА, совпало с количеством положительных сывороток при использовании опытного образца антигена с концентрацией белка 2,49 мкг/мл. Таким образом, полученные в результате экспери-

Адрес для переписки:

Канина Ирина Владимировна
390026, Россия, г. Рязань, Высоковольная ул., 9,
ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский
университет им. академика И.П. Павлова.
Тел.: 8 920 630-02-27.
E-mail: kanina.irina1987@yandex.ru

Contacts:

Irina V. Kanina
390026, Russian Federation, Ryazan, Vysokovoltnaya str., 9,
Ryazan State Medical University named after academician
I.P. Pavlov.
Phone: +7 920 630-02-27.
E-mail: kanina.irina1987@yandex.ru

Для цитирования:

Канина И.В., Новак А.И., Новак М.Д., Евдокимова О.В. Получение иммунодиагностических препаратов из антигенов *Toxocara canis* для серодиагностики токсокароза у человека // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 2. С. 391–396. doi: 10.15789/2220-7619-OID-1804

Citation:

Kanina I.V., Novak A.I., Novak M.D., Evdokimova O.V. Obtaining immunodiagnostic preparations from *Toxocara canis* antigens for serodiagnostics of toxocarosis in human // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 2, pp. 391–396. doi: 10.15789/2220-7619-OID-1804

Исследования выполнены на средства гранта для молодых ученых ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (договор № 2/21 от 11.01.2021 г.).
The research was supported by a grant for young scientists from the Ryazan State Medical University of the Ministry of Health of Russia (contract No. 2/21, January 11, 2021).

© Канина И.В. и соавт., 2022

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-OID-1804>

мента иммунодиагностические препараты на основе экскреторно-секреторных антигенов *Toxocara canis* характеризуются высокой чувствительностью и могут быть использованы для выявления токсокара-IgG-антител в иммуноферментном анализе. Концентрация белка в антигенном препарате не менее 2,49 мкг/мл является оптимальной и по чувствительности совпадает с коммерческим антигеном стандартной тест-системы.

Ключевые слова: токсокароз, иммунодиагностика, экскреторно-секреторный антиген, иммуноферментный анализ, личинки, диагностикум.

OBTAINING IMMUNODIAGNOSTIC PREPARATIONS FROM *TOXOCARA CANIS* ANTIGENS FOR SERODIAGNOSTICS OF TOXOCARIASIS IN HUMAN

Kanina I.V., Novak A.I., Novak M.D., Evdokimova O.V.

Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, Ryazan, Russian Federation

Abstract. Toxocariasis is a human helminthic invasion that has a wide range of hosts with epizootic distribution. The population seropositivity in countries with a temperate climate comprises about 37%, whereas in regions with tropical climate — up to 92%. Almost all age groups of the population are at risk of invasion by toxocar. The immunological method currently retains diagnostic significance for toxocariasis, because the reaction of immune system against helminths is accompanied by developing sensitization, and techniques as well as methods of collecting clinical material to identify the migratory form of toxocarosis in humans are time-consuming and invasive. The purpose of this study is to develop an immunobiological preparation based on excretory-secretory antigens from *Toxocara canis* larvae for serodiagnostics of larva migrans syndrome in human by using enzyme-linked immunoassay (ELISA). Antigens were obtained from *Toxocara canis* larvae by culturing its eggs isolated from the uterus of female nematodes in the glutamine-supplemented medium. The preparation was purified from ballast substances by centrifugation at 8000 g for 20 minutes followed by filtration through microfiltration membrane with a pore diameter of 0,05–0,15 microns, type MFAS-P-1 (manufactured by CJSC STC Vladipor). Blood serum of student volunteers from countries with high incidence rate of toxocariasis were tested to detect *T. canis*-specific antibodies. ELISA with commercial antigens Toxocara-IgG-ELISA-BEST kit was used for selection of seropositive and seronegative sera also used as a control. Diagnostic antigenic preparations with different protein concentrations were prepared to examine seropositive sera for determining optimal dose of the antigenic drugs. **Results.** ELISA with standard test kit allowed to detect Toxocara-IgG antibodies in 20 sera (8%) from 250 samples, what indicates about antigenic stimulation of the immune system by helminths and suspected former disease. Analyzing experimental samples allowed to find the number of seropositive data correlated with antigenic protein concentration in preparations: at a concentration of 1,96 µg/ml 5,2% of positive results were detected, 1,71 µg/ml — 3,2%, 0,33 µg/ml — 0,8% (Pearson's correlation coefficient 0,94). The number of positive sera detected with commercial antigen in ELISA kit was identical to that of positive sera detected by an experimental antigen sample with a protein concentration of 2,49 µg/ml. Thus, the immunodiagnostic preparations obtained by the experimental method based on the excretory-secretory antigens from *Toxocara canis* are characterized by high sensitivity and can be used to detect Toxocara-IgG antibodies in ELISA. The antigen preparation protein concentration of at least 2.49 µg/ml is optimal and correlates with sensitivity of the commercial antigen of the standard ELISA.

Key words: toxocariasis, immunodiagnostics, excretory-secretory antigen, linked immunosorbent assay, larvae, diagnosticum.

Введение

Токсокароз — гельминтозная инвазия человека, имеющая широкий круг хозяев с эпизоотическим распространением. Серопозитивность населения в странах умеренного пояса составляет около 37%, на территориях с тропическим климатом — до 92%. Риску инвазии подвержены практически все возрастные группы населения [1].

Заражение человека происходит алиментарно при попадании инвазионных яиц токсокар от млекопитающих семейств *Canidae* или *Felidae* в продукты питания, питьевую воду, а также при несоблюдении гигиенических мер при контакте с животными, преимущественно щенками и кошками. В тонком кишечнике человека из инвазионных яиц освобождаются личинки, которые через слизистые оболочки кишечника проникают в кровоток и мигрируют в органы и ткани, вы-

зывая миграционную форму токсокароза — синдром larva migrans. Часть личинок задерживается в легких и паренхиматозных органах, окружается реактивно-измененными тканями с формированием паразитарных гранул. Особенности иммунного ответа при инфицировании токсокарами обусловлены характером взаимоотношений «паразит–хозяин», спецификой онтогенеза и антигенной структурой нематод. В развитии инвазионного процесса особую роль играют гуморальные факторы защиты организма, что определяет подходы к диагностике инвазии у человека [2]. «Адаптационная толерантность» гельминтов приводит к уменьшению иммунореактивности организма и, как следствие, снижению напряженности иммунитета. Сенсибилизирующее действие метаболитических антигенов определяет иммунопатогенез с развитием неспецифичной и полиморфной клинической картины.

Иммунологический метод в настоящее время сохраняет преимущественное диагностическое значение при синдроме *larva migrans*, так как реакция иммунной системы на антигены гельминтов сопровождается формированием сенсibilизации, а техники и способы отбора клинического материала для выявления миграционной формы токсокароза у человека трудоемкие и инвазивные.

Разработкой иммунодиагностических тестов при токсокарозе занимались российские и зарубежные ученые в ветеринарной и медицинской практике [6, 7, 8, 9]. Тем не менее используемые в ветеринарии иммунореагенты недостаточно адаптированы для диагностики миграционной формы токсокароза у человека, иммунореагенты на основе тканевых компонентов токсокар дают перекрестные реакции с антигенными детерминантами гельминтов близких в филогенетическом отношении родов. Наиболее специфичными для иммунодиагностики токсокароза у человека являются экскреторно-секреторные антигены личинок токсокар. Коммерческий набор «Токсокара-IgG-ИФА-БЕСТ» позволяет провести ретроспективный анализ инвазии токсокарами, но мало пригоден для выявления миграционной формы токсокароза [7].

В ходе разработки иммунодиагностических препаратов на основе экскреторно-секреторных антигенов токсокар нами ранее были отработаны и модифицированы условия культивирования личинок. Изучено влияние дезинфицирующих веществ на эмбриональное развитие *Toxocara canis in vitro* [4, 5].

Цель настоящего исследования — разработка иммунобиологического препарата на основе экскреторно-секреторных антигенов личинок *Toxocara canis* для серодиагностики синдрома *larva migrans* у человека в реакции иммуноферментного анализа.

Материалы и методы

Исследования проведены в 2019–2020 гг. на базе кафедры микробиологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Экскреторно-секреторные антигены получали при культивировании личинок токсокар в питательной среде, содержащей 16 г 1%-ного глутамин, 500 тыс. ЕД нистатина и 2,5 мг гентамицина [6]. Яйца выделяли из маток половозрелых самок, полученных после дегельминтизации трех-четырёхмесячных щенков свободного выгула. Эмбриональное развитие контролировали с использованием бинокулярного микроскопа «Микмед-5» (ЛОМО, Санкт-Петербург, Россия) при увеличении ок. 15 × об. 10. Выход личинок из яиц обеспечивали воздействием

раствора панкреатина (240 ЕД/мл) в термостате ТС-1/20 СПУ. Отмывание антигенов от балластных веществ производили на центрифуге J2-HS Beckman Coulter.

Оценка стерильности полученных антигенных препаратов проведена ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Рязанской области согласно «Государственной фармакопее РФ» в соответствии с СанПин 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность». Все предоставленные образцы антигенов стерильны и безопасны (протокол лабораторных исследований № 4414 от 14.04.2021).

Для каждой партии препарата определяли оптическую плотность на спектрофотометре СФ-2000 с последующим расчетом концентрации белка по формуле Калькара (ОФС 1.2.300.12 «Определение белка спектрофотометрическим методом»).

Верификация диагностической значимости приготовленных антигенных препаратов производилась методом параллельного тестирования 250 сывороток крови от клинически здоровых студентов-добровольцев ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием полистироловых планшетов, сенсibilизированных опытными образцами антигенов токсокар, и стандартизированной тест-системы «Токсокара-IgG-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск, Россия) [3, 7].

Для аспирации исследуемых образцов и последующей промывки применяли автоматический вошер Wellwash Versa (Thermo Fisher Scientific, США). Учет результатов ИФА проводили с помощью ImmunoChem-2100 Microplate Reader [3].

Результаты и обсуждение

Отработка параметров культивирования личинок токсокар и получения антигена

Антиген получали самостоятельно при культивировании личинок *Toxocara canis* в глутамин-содержащей питательной среде. Для выделения яиц у самок токсокар отпрепаровывали матку. Яйца из матки освобождали путем гомогенизации в фарфоровой ступке с добавлением 1 мл физиологического раствора. Суспензию с яйцами помещали в чашки Петри с питательной средой.

Яйца культивировали в течение 30 дней при комнатной температуре, естественном освещении, в аэробных условиях. Формирование жизнеспособных личинок наблюдали на 21 день культивирования. По истечении срока инкубации около 60% личинок самостоятельно осво-

бождались от яичевых оболочек. Культуральную среду с личинками четырехкратно пропускали через металлические фильтры до полного очищения от остатков волокон матки. Полученную суспензию центрифугировали при 2000 g в течение 10 минут с последующим удалением супернатанта. Осадок, содержащий личинки, двукратно отмывали физиологическим раствором при 1000g в течение 10 минут и использовали для получения экскреторно-секреторных антигенов.

Оставшаяся часть яиц для растворения яичевых оболочек подвергалась воздействию панкреатина. Суспензию с инвазионными яйцами культивировали в аппарате Бермана в условиях термостата при температуре 37°C в течение суток для выхода жизнеспособных личинок из яичевых оболочек и последующей миграции через слой марли на дно пробирки. Осевших на дно пробирки личинок отмывали забуференным физиологическим раствором от панкреатина путем центрифугирования при скорости 500g в течение 10 минут. Осадок с поверхности марли в аппарате Бермана исследовали микроскопическим методом на наличие яиц токсокар. При наличии яиц с живыми личинками материал повторно подвергали воздействию панкреатина.

Полученных личинок культивировали трое суток в глютамин-содержащей среде при температуре 37°C с ежедневным контролем их жизнеспособности. После гибели личинок экскреторно-секреторные антигены отделяли от балластных веществ путем центрифугирования при 8000g в течение 20 мин до полного просветления надосадка.

Супернатант в асептических условиях пропускали через бактериальные фильтры МФАС-П-1,

разливали в стерильные флаконы объемом 5 мл, плотно закрывали резиновыми пробками и замораживали. В таких условиях при соблюдении полной герметичности экскреторно-секреторный антиген может сохранять свою активность длительное время.

В процессе культивирования разных партий личинок получено 13 образцов экскреторно-секреторных антигенов. Каждый образец после проверки флакона на целостность и эффективность герметизации контролировали на санитарно-микробиологическую чистоту.

Тестирование полученных иммунодиагностических препаратов

Для оценки диагностической ценности полученных антигенных препаратов в каждом образце определяли оптическую плотность и концентрацию белка. Показатели концентрации белка в зависимости от экстинкции исследуемого образца представлены в табл. 1. Максимальной концентрацией белка (2,49 мкг/мл) отличались образцы № 3–6, 8–13.

Все полученные образцы антигена использовали для сенсibilизации иммунологических планшетов и дальнейшей постановки ИФА. Антигены иммобилизовали в лунках полистиролового планшета путем «пассивной сорбции» в течение 60 минут при температуре 37°C. Отрицательным и положительным контролем служили стандартные тест-сыворотки из набора «Токсокара-IgG-ИФА-БЕСТ».

Сыворотки крови от клинически здоровых студентов-добровольцев из тропических стран, где частота заболеваемости токсокарозом по литературным данным стабильно высокая,

Таблица 1. Зависимость концентрации белка в опытных образцах от величины оптической плотности

Table 1. A relation between protein concentration in the test samples and optical density

Длина волны, нм Wavelength, nm	260	280	480	580	680	780	Концентрация белка, мкг/мл Protein concentration, µg/ml
№ образца Sample number	Величина оптической плотности Magnitude of optical density						
1	3,0852	2,7777	2,9205	3,0549	2,5386	1,6221	1,960683
2	3,0075	2,5799	2,9545	3,1549	2,9247	1,9445	1,713145
3	3,1549	3,1549	3,1549	3,1549	2,0202	1,2351	2,492371
4	3,1549	3,1549	3,1549	1,9695	1,0935	0,6620	2,492371
5	3,1549	3,1549	3,1549	2,5982	1,518	1,6241	2,492371
6	3,1549	3,1549	3,1549	2,5796	1,6853	1,2472	2,492371
7	3,1549	1,7647	0,5606	0,2220	0,1126	0,0883	0,337561
8	3,1549	3,1549	1,4937	0,9530	0,6762	0,4937	2,492371
9	3,1549	3,1549	2,8857	1,9136	1,4494	1,1684	2,492371
10	3,1549	3,1549	2,3133	1,5725	1,2850	1,0904	2,492371
11	3,1549	3,1549	2,3133	1,5725	1,2850	1,0904	2,492371
12	3,1549	3,1549	2,3987	2,1996	1,8691	1,4774	2,492371
13	3,1549	3,1549	3,1549	3,1526	2,9550	2,8658	2,492371

тестировали на наличие антител к токсокарам параллельно в стандартной тест-системе АО «Вектор-Бест» и с использованием экспериментальных партий антигенов.

Результаты иммуноферментного анализа с использованием стандартной тест-системы показали 20 серопозитивных проб из 250 — 8%. При постановке ИФА с опытными образцами антигенов количество серопозитивных проб коррелировало с концентрацией белка в антигенных препаратах. Результаты представлены в табл. 2.

При низких концентрациях белка выявлено меньшее количество серопозитивных проб по сравнению со стандартной тест-системой: 1,96 мкг/мл — 5,2%, 1,71 мкг/мл — 3,2%, 0,33 мкг/мл — 0,8% (коэффициент корреляции Пирсона — 0,94). При сенсбилизации иммунологических планшетов образцами антигена с концентрацией белка 2,49 мкг/мл количество положительных результатов совпало с показателями ИФА в стандартной тест-системе.

Основными характеристиками диагностического препарата являются степень его чувствительности, специфичности и воспроизводимости результатов. Указанные свойства можно оценить по способности препарата выявлять как положительные, так и отрицательные результаты при серологическом исследовании крови пациентов. Для исключения перекрестных реакций между нематодами разных родов целесообразно использование экскреторно-секреторных компонентов с высокой молекулярной массой, что подтверждается другими исследователями [6, 7, 8].

Уровень специфичности тест-системы определяется опытным путем при рандомном исследовании сывороток крови пациентов с наибольшей степенью вероятности заболевания.

Все обследованные в ходе эксперимента люди принадлежат к группе высокого риска, так как согласно эпидемиологическим данным в странах тропического пояса уровень инвазирования населения токсокарами достаточно высок [1]. Наиболее часто миграционная форма токсокароза встречается в детском возрасте. Выявление токсокара-IgG-антител в 20 сыворотках (8%) свидетельствует об антигенной стимуляции иммунной системы гельминтами и ранее перенесенном заболевании.

Достоверность результатов при иммунодиагностике токсокароза у человека обеспечивается специфичностью и чистотой антигенных фракций диагностического препарата. В ряде экспериментов в серологических реакциях применяли соматические антигены токсокар от взрослых особей [8, 9]. Однако они обладают низкой специфичностью и показывают ложноположительные результаты при паразитировании других нематод.

Высокой диагностической значимостью при миграционной форме токсокароза характеризуются серологические тесты с использованием экскреторно-секреторных антигенов личиночных стадий. При этом концентрация белка в диагностическом препарате играет ведущую роль в выборе образца, пригодного для постановки иммунодиагностических реакций.

Антитела к экскреторно-секреторным антигенам и циркулирующие иммунные комплексы после завершения инвазионного процесса могут длительное время сохраняться в организме человека. Подтверждение диагноза «токсокароз» возможно при достижении диагностического титра и наличии патогномичной симптоматики. Положительные результаты ИФА (наличие иммуноглобулинов класса G) при отсутствии явной клинической симптоматики могут свидетельствовать о перенесенном в анамнезе токсокарозе или недавней элиминации гельминтов из организма.

Как подтверждающая методика при диагностике токсокароза у человека используется иммуноблоттинг в тест-системе TOXOCARA Western Blot IgG. В качестве мишеней в этом тесте выступают белки со сложной структурой, что позволяет точно дифференцировать на-

Таблица 2. Количество серопозитивных сывороток крови при использовании опытных образцов антигена с различной концентрацией белка

Table 2. The number of seropositive blood serum samples after using test antigen samples at varying protein concentrations

№ образца Sample number	Концентрация белка, мкг/мл Protein concentration, µg/ml	Количество серопозитивных результатов Number of seropositive results	Количество серонегативных результатов Number of seronegative results
1	1,960683	13	237
2	1,713145	8	242
3	2,492371	20	230
4	2,492371	20	230
5	2,492371	20	230
6	2,492371	20	230
7	0,337561	2	248
8	2,492371	20	230
9	2,492371	20	230
10	2,492371	20	230
11	2,492371	20	230
12	2,492371	20	230
13	2,492371	20	230

личие антительного ответа на специфические и неспецифические детерминанты нематод [7]. Однако надо учитывать, что вестерн-блот достаточно трудоемкий и дорогостоящий метод диагностики гельминтозных инвазий.

Для диагностики токсокароза у человека наиболее удобным в использовании, унифицированным и быстрым скрининговым методом является ИФА. Эта реакция сочетает сохранение стабильности всех компонентов системы в течение рекомендуемого срока использования, высокую чувствительность и легкость в интерпретации результатов.

Заключение

Таким образом, полученные в результате эксперимента иммунодиагностические препараты на основе экскреторно-секреторных антигенов личинок *Toxocara canis* характеризуются высокой чувствительностью и могут быть использованы для выявления токсокара-IgG антител в иммуноферментном анализе у человека. Концентрация белка в антигенном препарате не менее 2,49 мкг/мл является оптимальной и по чувствительности совпадает с коммерческим антигеном стандартной тест-системы.

Список литературы/References

1. Адаменко Г.П., Никулин Ю.Т. Токсокароз — актуальная проблема здравоохранения // Медицинские новости. 2004. № 2. С. 31–36. [Adamenko G.P., Nikulin Yu.T. Toxocariasis is an urgent problem of public health. *Meditsinskie novosti = Medical News*, 2004, no. 2, pp. 31–36. (In Russ.)]
2. Даугалиева Э.Х. Иммунитет при гельминтозах // Труды ВИГИС. 2000. Т. 36. С. 27–49. [Daugalieva E.Kh. Immunity in helminthiasis. *Trudy VIGIS = Works of All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant*, 2000, vol. 36, pp. 27–49. (In Russ.)]
3. Иванская Н.В., Кислых Е.Н., Максименко Е.В., Раевская Г.Е., Пилипенко В.Г. Практическое пособие по иммуноферментному анализу. Киев: Диапроф-Мед, 2003. С. 54–68. [Ivanskaya N.V., Kislykh E.N., Maksimenok E.V., Raevskaya G.E., Pilipenko V.G. A practical guide to enzyme immunoassay. *Kiev: Diaprof-Med*, 2003. Pp. 54–68. (In Russ.)]
4. Канина И.В., Новак А.И., Евдокимова О.В. Овицидная активность дезинфицирующих средств в отношении яиц *Toxocara canis* // Проблемы медицинской микологии. 2021. Т. 23, № 2. С. 86–87. [Kanina I.V., Novak A.I., Evdokimova O.V. Ovicidal activity of disinfectants against *Toxocara canis* eggs. *Problemy meditsinskoy mikologii = Problems of Medical Mycology*, 2021, vol. 23, no. 2, pp. 86–87. (In Russ.)]
5. Канина И.В., Новак А.И., Новак М.Д., Евдокимова О.В. Подбор оптимальных доз антимикробных препаратов при культивировании личинок *Toxocara canis* // Проблемы медицинской микологии. 2020. Т. 22, № 3. С. 85–86. [Kanina I.V., Novak A.I., Novak M.D., Evdokimova O.V. Selection of optimal doses of antimicrobial drugs in the cultivation of *Toxocara canis* larvae. *Problemy meditsinskoy mikologii = Problems of Medical Mycology*, 2020, vol. 22, no. 3, pp. 85–86. (In Russ.)]
6. Новак М.Д., Солопов П.А. Иммуноферментный анализ и реакция непрямой гемагглютинации для диагностики имагинального и ларвального токсокароза собак // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. 2009. № 10. С. 286–287. [Novak M.D., Solopov P.A. Immunoassay and indirect hemagglutination reaction for the diagnosis of imaginal and larval toxocariasis in dogs. *Teoriya i praktika borby s parazitarnymi boleznyami = Theory and Practice of Combating Parasitic Diseases*, 2009, no. 10, pp. 286–287. (In Russ.)]
7. Новиков П.Д., Никулин Ю.Т., Хотетовская Ж.В., Новиков Д.К. Иммунодиагностика токсокароза // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2007. № 2. С. 65–72. [Novikov P.D., Nikulin Yu.T., Hotetovskaya Zh.V., Novikov D.K. Immunodiagnosis of toxocariasis. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya = Immunopathology, Allergology, Infectology*, 2007, no. 2, pp. 65–72. (In Russ.)]
8. Annen J.M., Eckert J., Hess U. Simple method for obtaining *Toxocara canis* antigen for the indirect immunofluorescence technic [In German]. *Acta Trop.*, 1975, vol. 1, no. 3, pp. 37–47.
9. Zarnowska-Prymek H. Enhancement of laboratory diagnosis specificity in human toxocariasis [In Polish]. *Wiad. Parazytol*, 2001, vol. 47, no. 3, pp. 489–496.

Авторы:

Канина И.В., аспирант кафедры микробиологии ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, г. Рязань, Россия;
Новак А.И., д.б.н., доцент, профессор кафедры микробиологии ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, г. Рязань, Россия;
Новак М.Д., д.б.н., профессор, профессор кафедры эпидемиологии ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, г. Рязань, Россия;
Евдокимова О.В., к.м.н., доцент, зав. кафедрой микробиологии ФГБОУ ВО Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, г. Рязань, Россия.

Authors:

Kanina I.V., PhD Student, Department of Microbiology, Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, Ryazan, Russian Federation;
Novak A.I., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Professor of the Department of Microbiology, Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, Ryazan, Russian Federation;
Novak M.D., PhD, MD (Biology), Professor, Professor of the Department of Epidemiology, Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, Ryazan, Russian Federation;
Evdokimova O.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head of the Department of Microbiology, Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, Ryazan, Russian Federation.