

Уахит Рабиға Сейтбатталқызы

**8D09101 «Ветеринарная медицина»
на соискание степени доктора философии (PhD)**

АННОТАЦИЯ

По теме диссертации: «Эпизоотологический мониторинг и молекулярно-генетический анализ гельминтов волков на территории северного и центрального Казахстана»

Астана – 2025 год

1. Общая характеристика работы.

Работа посвящена комплексному эпизоотологическому и молекулярно-генетическому исследованию гельминтов волков, обитающих в северных и центральных регионах Казахстана, в области ветеринарной паразитологии.

2. Актуальность темы:

Дикие хищники, такие как волки, лисы и корсаки являются естественными хозяевами для многих видов паразитов, представляющих опасность для человека и животных [1-3].

Волки (*Canis lupus*) играют важную роль в природных экосистемах, такие, как поддержания численности копытных, утилизации павших животных. [4,5]. Однако волки также являются естественными носителями и распространителями многих паразитарных инвазий [6,7]. Среди которых серьезную опасность для здоровья человека представляют тениоз, эхинококкоз, токсокароз и трихинеллез.

Гельминтозы в Казахстане имеют свои эпизоотические и эпидемиологические особенности, обусловленные специфическими климатическими и социально-экономическими условиями. Вся территория республики благоприятна для массового распространения различных видов гельминтов [8].

До настоящего времени паразитологические исследования в республике преимущественно базировались на морфологических методах, которые имеют ограниченную точность при идентификации видов и не позволяют проводить генотипирование паразитов. Это затрудняет построение эффективной стратегии эпизоотологического мониторинга и профилактики гельминтозов.

В настоящее время имеются лишь отдельные сообщения об исследованиях паразитофауны диких плотоядных. По имеющимся литературным данным, паразиты, обнаруженные на территории Казахстана, относятся к семействам *Trichocephalida*, *Taeniidae*, *Cyclophyllidae*, *Toxocarida*, *Opistharchidae*. Эти данные были получены на основе морфологических признаков, имеющего ряд недостатков и ограничений по сравнению с методами молекулярной биотехнологии [9, 10]. Использование молекулярно-генетических и биоинформатических подходов, позволяет не только точно определить таксономическую принадлежность паразитов, но и выявить внутривидовую генетическую вариативность.

Регулярный мониторинг и профилактика гельминтной инвазий в естественной среде обитания животных позволяют контролировать распространение паразитов в экосистемах и минимизировать угрозы для сельского хозяйства и здравоохранения. Поэтому исследования генетического биоразнообразия и эпидемиологии опасных для животных и человека возбудителей гельминтозов волков являются актуальными для современной ветеринарии, медицины и экологии в Казахстане [11, 12].

Современные молекулярные методы, включая секвенирование генов рибосомальной РНК и митохондриальных генов (*cox1*, *nad1*, *ITS*), предлагают надежную основу для точной идентификации видов и генотипов возбудителей. Эти передовые методы не только облегчают идентификацию ранее нераспознанных генотипов и гаплотипов, но и позволяют более эффективно отслеживать пути передачи и определять источники инфекции. Это особенно важно, учитывая

высокую географическую изменчивость, проявляемую видами *Echinococcus*, что может привести к различным эпидемиологическим моделям и проблемам в лечении заболеваний.

В связи с выше сказанным, в диссертационной работе используются молекулярно-генетические методы изучения гельминтофауны *C. lupus* для эпидемиологического мониторинга и разработки стратегии профилактики паразитозов в естественных экосистемах [13, 14].

Ключевые слова: волк (*Canis lupus*), гельминтозы, эпизоотологический мониторинг, молекулярно-генетический анализ, паразиты, ПЦР, секвенирование, биоинформатика, генотипирование, зоонозы.

3. Цель и задачи исследований

Целью работы является эпизоотологический мониторинг и молекулярная диагностика гельминтозов волков северного и центрального Казахстана.

Для достижения цели поставлены следующие задачи:

- определение видового состава и таксономической принадлежности паразитов волков по морфологическим признакам;
- определение показателей инвазированности гельминтами, проведение эпизоотологического мониторинга гельминтозов волков;
- молекулярно-генетический анализ выделенных гельминтов для генотипирования;
- биоинформатический анализ ДНК гельминтов волков по сравнению с референтными аналогами, построение филогенетических деревьев обнаруженных паразитов;
- разработка методических рекомендаций по молекулярной идентификации гельминтов волков.

4. Объект и предмет исследований

Объектом исследования являются гельминты, паразитирующие у волков (*Canis lupus*), обитающих в северных и центральных регионах Казахстана. Предметом исследования являются эпизоотологические особенности, таксономическая структура и молекулярно-генетическая характеристика выявленных гельминтов.

5. Материалы и методы:

Работа выполнена в период с января 2019 года по апрель 2024 года, были изучены внутренние органы 81 волка из пяти областей, три образца из Павлодарской, 48 образцов из Карагандинской, девяти образцов из Улытауской и 21 образец из Костанайской области. Эти образцы были получены из лицензированных охотничьих хозяйств, которые придерживались регламентированных лимитов на изъятие волков из их естественной среды обитания.

Доставленный материал исследовали методами полного и/или неполного гельминтологического вскрытия по К. И. Скрыбину [15, 16], в результате чего создали коллекцию гельминтов, установили таксономическую принадлежность по классическим определителям согласно морфологическим признакам паразитов [17]. Дополнительно проводили изучение мышечной ткани методами компрессионной диагностики и искусственного переваривания, копрологические

исследования фекалий на наличие гельминтов. На основе статистической обработки полученных данных, проведен комплексный анализ и эпизоотологический мониторинг гельминтозов волков в экосистемах северного и центрального Казахстана [18].

Видовую идентификацию обнаруженных гельминтов уточняли с использованием методов молекулярного генотипирования. С этой целью, были модифицированы методы выделения ДНК из образцов гельминтов с применением коммерческих наборов и фенол-хлороформным методом; подобраны оптимальные параметры реакций (гомогенизация, температурный режим, объем и концентрация буферов и реагентов) экстрагирования генетического материала для каждого вида. Биоразнообразие выявленных паразитов анализировали с помощью праймеров на маркерные участки *ITS1*, *ITS2*, *cox1*, *18s rRNA*, специфических для каждого вида. На следующем этапе исследований оптимизированы параметры постановки ПЦР анализа на каждый маркерный ген. Затем проводили секвенирование полученных ампликонов на маркерный участок гена и идентификацию вида.

Далее проводили биоинформатический анализ нуклеотидных последовательностей посредством определения идентичности с известными референтными аналогами с помощью программ базовых инструментов поиска локального выравнивания (BLASTn). Затем были построены филогенетические деревья идентифицированных видов в программном обеспечении MEGA11 [19], с применением множественного выравнивания ClustalW и математического моделирования максимального правдоподобия.

6. Научная новизна работы:

Впервые в условиях северного и центрального Казахстана проведено комплексное исследование гельминтофауны волков с использованием молекулярно-генетических методов, что позволило уточнить видовую принадлежность, генетическое разнообразие и филогенетические связи паразитов. В ходе работы впервые в республике подтверждена циркуляция *Trichinella nativa* и *Dirofilaria repens* у волков с регистрацией соответствующих нуклеотидных последовательностей в базе GenBank. Выявлены пять уникальных гаплотипов *Echinococcus granulosus*, ранее не описанных в исследуемых экосистемах. Полученные данные существенно дополняют сведения о таксономической структуре паразитофауны диких хищников Казахстана и демонстрируют значимость молекулярных подходов для эпизоотологического мониторинга и профилактики зоонозных инфекций.

7. Основные положения, выносимые на защиту:

1. Таксономическая принадлежность гельминтов у волков по морфологическим признакам;
2. Инвазированность гельминтами, эпизоотологический мониторинг гельминтозов волков на территории северного и центрального Казахстана;
3. Молекулярно-генетическая идентификация гельминтов волков;
4. Биоинформатический анализ ДНК видов гельминтов.

8. Практическое значение

Изучены распространение и эпизоотическое состояние гельминтозов волков

в северных и центральных регионах страны. Отработаны основные методы выделения геномной ДНК паразитов с применением фенол-хлороформ изоамила и коммерческих наборов (Gene Jet genomic DNA purification kit, Biolabmix DNA extraction kit, Monarch DNA purification kit). Были подобраны видо- и родоспецифические праймеры на маркерные участки генома для генотипирования гельминтов.

На основе разработанных протоколов предложены методические рекомендации генетической идентификации видов гельминтов: *Echinococcus granulosus*, *Taenia hydatigena*, *Mesocystoides spp.*, *Toxascaris leonina*, *Trichinella nativa*, *Alaria alata* и *Dirofilaria repens*.

Полученные результаты служат основой для разработки эффективных стратегий контроля и управления гельминтозами дикой популяции волков в экосистемах северного и центрального Казахстана. Результаты важны для ветеринарной медицины, санитарной эпидемиологии, охраны дикой природы, общественного здравоохранения. Данные могут быть использованы для разработки национальных программ по профилактике и контролю эхинококкоза.

9. Основные результаты исследований, выводы

Вывод 1: Таксономический анализ и эпизоотологический мониторинг паразитарной нагрузки на популяцию волков в исследуемых экосистемах показали высокий общий уровень гельминтозной инвазии - 72,4%. Установлено, что степень заражённости существенно варьировала в зависимости от региона. Наибольшая паразитарная нагрузка отмечена у волков, обитающих в степных и полупустынных экосистемах, где природные условия способствуют циркуляции гельминтов. Так, на территории центрального Казахстана в Карагандинской области уровень заражённости составил 42%, в Улытауском районе - 12,3%. На территории северного Казахстана в Костанайской области - 21%, минимальные показатели зарегистрированы в Павлодарской области - 4%, что, вероятно, связано с ограниченным объёмом выборки. В связи с тем, что на территории Северо-Казахстанской области не были установлены лимиты на изъятия волков, по данному области нет представленных данных. Полученные данные подчеркивают влияние экологических факторов на распространение гельминтозов среди диких хищников.

Вывод 2: Установлено, что гельминтная фауна представлена четырьмя классами паразитов (*Trematoda*, *Cestoda*, *Nematoda* и *Archiacanthocephala*), относящимися к трём типам: *Platyhelminthes*, *Nemathelminthes* и *Acanthocephala*. Видовой состав гельминтов включает: *Alaria alata* (трематоде), *Echinococcus granulosus*, *Taenia hydatigena*, *Mesocystoides spp.* (цестоды), *Toxascaris leonina*, *Trichinella nativa*, *Dirofilaria repens* (нематоды) и *Oncicola spp.* (акантоцефалы). Наиболее распространёнными были цестоды, экстенсивность инвазии которыми достигала 54,3%, а тенииды - 50% при средней интенсивности инвазии 31,1 экз., в том числе *E. granulosus* - 4,3% при интенсивности 20,5 экз., что свидетельствует об их ведущей роли в формировании паразитарной нагрузки у волков.

Вывод 3: Установлено, что наиболее уязвимыми к гельминтной инвазии были особи в возрасте от 1 до 4 лет, их заражённость составила 88%. Молодые волки от 3 месяцев до 1 года демонстрировали значительно меньшую степень

заражённости – всего 20%. При этом самцы (70%) были более склонны к заражению, чем самки (30%), что объясняется доминирующим социальным статусом первых в стае. Исследование показало, что волки, живущие в степных и полупустынных регионах, были более склонны к заражению гельминтами. Среди этих регионов полупустынная Карагандинская область имела самую высокую распространенность гельминтных инфекций, что свидетельствует о том, что окружающая среда в этом регионе особенно благоприятствует распространению и циркуляции гельминтов.

Вывод 4: Молекулярно-генетическому анализу для уточнения видов *Trichinella spp.* подвергли 81 образец мышечной ткани волков, из которых 17 (21%) дали положительный результат на наличие трихинелл. Видовая идентификация проведена с помощью мультиплексной ПЦР с амплификацией генов *ESV*, *ITS1* и *ITS2* [20], а также ПЦР участков генов *5s rDNA* и *ITS1* [21] с последующим секвенированием. На основании полученных последовательностей построено филогенетическое дерево, что подтверждает циркуляцию *T. nativa* (номер доступа Genbank: OP829905, OP829904) среди волков на территории Казахстана.

Вывод 5: Из 81 проанализированного образца у 8 волков (9,6%) из Костанайской (4 особи), Улытауской (2 особи) и Карагандинской (2 особи) областей была выявлена инвазия *Toxascaris leonina*, что подтверждено результатами молекулярной идентификации (номера доступа GenBank: OR647588, OR647594). Проведённый анализ рибосомной ДНК с использованием праймеров *NC5/NC2* [22] позволил не только надёжно подтвердить видовую принадлежность паразита, но и выделить три чётко сформированные филогенетические клады, включая обособленную кладу *T. leonina*, обнаруженного у волков. Эти данные свидетельствуют о стабильной циркуляции данного нематодного паразита среди популяций диких хищников региона, а также указывают на потенциальные риски для домашних животных и человека. Примечательно, что *Toxocara canis*, широко распространённый у плотоядных, в данном исследовании не был выявлен, что может отражать специфические региональные особенности распространения нематодозов в северных и центральных районах Казахстана.

Вывод 6: Среди исследованных волков, инфицированных эхинококкозом, были выявлены по две особи из Карагандинской и Костанайской областей, от которых было выделено в общей сложности семь образцов возбудителя. Уровень заражённости эхинококкозом составил 4,3%, что подтверждает наличие устойчивых природных очагов в указанных регионах. Для оценки генетического разнообразия *Echinococcus granulosus* были использованы митохондриальные маркеры *cox1* и *nad1* [23], параметры которых были адаптированы к особенностям биоматериала. Секвенирование амплифицированных фрагментов позволило идентифицировать пять различных гаплотипов (GenBank: OM319836, OM319830, OM319844, OM640352, OM640353, OM640354), что свидетельствует о высокой внутривидовой вариабельности паразита. Полученные данные имеют важное значение для понимания генетической структуры популяций *E. granulosus* в Казахстане, а также служат основой для дальнейшего эпидемиологического мониторинга и разработки эффективных стратегий контроля эхинококкоза у диких и домашних животных. Результаты заполняют существенные пробелы в знании о

распространении этого патогена среди ключевых резервуарных видов - в частности, волков.

Вывод 7: Впервые с использованием молекулярно-генетических методов подтверждено наличие *Dirofilaria repens* в сердце волка, что стало важным доказательством циркуляции данного паразита среди диких хищников Казахстана. Видовая идентификация была выполнена на основе амплификации участка SSU рРНК с применением видоспецифичных праймеров, а полученная нуклеотидная последовательность депонирована в базе данных GenBank под номером MT877205.

Кроме того, в ходе исследования рибосомального гена трематод, обнаруженных у волков, установлен вид *Alaria alata*, ДНК-последовательность которого также внесена в GenBank (номер доступа: ON358106). Эти результаты расширяют представление о спектре гельминтов, инфицирующих диких плотоядных животных региона, и подчёркивают значимость молекулярной диагностики для точного выявления патогенов с потенциальной зоонозной опасностью.

Вывод 8: Биоинформатический анализ нуклеотидных последовательностей, полученных в ходе молекулярно-генетических исследований гельминтов волков, подтвердил видовую принадлежность паразитов и их филогенетические связи с известными референтными штаммами. Построенные филогенетические деревья на основе рибосомальных участков показали, что все положительные образцы трихинелл образуют единую кладу с *Trichinella nativa*, циркулирующей среди волков Казахстана. Анализ последовательностей нематод выявил три отчётливые филогенетические клады, включая обособленную кладу *Toxascaris leonina*. Секвенирование митохондриальных участков позволило определить пять уникальных гаплотипов *E. granulosus*, отражающих высокое генетическое разнообразие возбудителя в исследуемых экосистемах. Также подтверждена филогенетическая идентичность видов *D. repens* и *A. alata* с аналогами из соседних регионов Евразии, что подчёркивает актуальность использования биоинформатических методов для эпидемиологического мониторинга природных очагов паразитарных болезней.

10. Связь с научно-исследовательскими работами и государственными программами

Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета Наук МОН РК в рамках проекта AP08052252 на 2020-2022 годы «Создание способа определения видовой принадлежности паразитов, наиболее распространенных среди диких плотоядных, методами молекулярной биотехнологии»; Руководитель проекта: PhD, ассоциированный профессор Киян В.С.

11. Достоверность и обоснованность полученных результатов

Достоверность и обоснованность полученных результатов подтверждается использованием комплекса современных и классических методов исследования, включающих морфологическую идентификацию гельминтов, методы эпизоотологического анализа, а также молекулярно-генетические подходы, такие как ПЦР, секвенирование и биоинформатический анализ. Все методики проводились с соблюдением стандартов воспроизводимости, с многократным повторением экспериментов и контролем отрицательных и положительных проб.

Для подтверждения видовой принадлежности паразитов использовались валидированные праймеры и международные базы данных (NCBI GenBank), куда также были внесены полученные в ходе исследования нуклеотидные последовательности. Филогенетические деревья построены с использованием общепринятого программного обеспечения (MEGA11), что позволило достоверно определить эволюционные связи выявленных паразитов с референтными штаммами. Кроме того, полученные данные согласуются с результатами предшествующих международных и отечественных исследований, что дополнительно подтверждает научную обоснованность выводов.

Полученные результаты подтверждались публикациями в журналах с высоким импакт-фактором и в изданиях, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (КОКСНВО МНВО РК), в трудах международных научных конференций ближнего и дальнего зарубежья.

12. Сведения о публикациях по основным результатам

1. Uakhit R, Smagulova A, Lider L, Leontyev S and Kiyan V (2024) Epizootiological monitoring of wolf helminths in Northern and Central Kazakhstan, *Veterinary World*, 17(7): 1648–1654. DOI: 10.14202/vetworld.2024.1648-1654.

Процентиль: 82%; Q2

2. Uakhit, R., Mayer-Scholl, A., Shin, C., Smagulova, A., Lider, L., Leontyev, S. & Kiyan, V. (2023) Genetic identification of *Trichinella* species found in wild carnivores from the territory of Kazakhstan. *Front Vet Sci*. 10: 1266561. doi: <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1266561>. **Процентиль: 92%; Q1**

3. Uakhit R, Smagulova A, Lider L, Shevtsov A, Berber AA, Berber AP, Bauer C and Kiyan V (2024) Molecular identification of *Baylisascaris melis* (Gedoele, 1920) from the Eurasian badger (*Meles meles*) and ascarids from other wild carnivores in Kazakhstan. *Front. Vet. Sci.* 11:1452237. doi: <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1452237> **Процентиль: 92%; Q1**

4. Uakhit, R., Smagulova, A., Syzdykova, A., Abdrakhmanov, S. & Kiyan, V. (2022) Genetic diversity of *Echinococcus* spp. in wild carnivorous animals in Kazakhstan. *Vet World*. 15(6): 1489-1496. doi: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.1489-1496>. **Процентиль: 82%; Q1**

5. Uakhit, R.S., Lider, L.A., Smagulova, A.M., Leontyev, S.V., Abdrakhmanov, S.K., & Kiyan, V.S. (2021). First molecular identification of *Dirofilaria repens* found in a wolf heart in Kazakhstan. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 9(9): 1342-1346. <https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2021/9.9.1342.1346>. **Процентиль: 47%; Q3**

13. Апробация результатов диссертации

Результаты диссертационной работы были доложены на международных конференциях:

1. Уахит Р.С., Жумалин А.Х., Сыздыкова А.С., Смагулова А.М., Мигушин А.А., Леонтьев С.В. Гельминтофауна диких плотоядных животных степной зоны Казахстана. Материалы международной научно – теоретической конференции «Сейфуллинские чтения – 17: «Современная аграрная наука: цифровая трансформация», посвященной 30–летию Независимости Республики Казахстан.- 2021.- Т.1, Ч.1 - С.316-318.

2. Uakhit R.S., Lider L.A., Kan M. Advantages of the staining method for studying the morphological characteristics of cestodes. Материалы международной научно-практической конференции «Сейфуллинские чтения - 18(2): «Наука XXI века - эпоха трансформации» 2022.- Т. I, Ч. II.-Р. 205-207.

3. Uakhit R.S., Lider L.A., Kiyan V.S. Molecular identification of cryptic cysticercosis: *Taenia krabbei* in Kazakhstan wild carnivores. European Biotechnology Congress, 2021. Special issue. – P. 32 – 35. DOI: <https://doi.org/10.2478/ebtj-2021-0031>.

4. Rabiga Uakhit, Vladimir Kiyan. Molecular genetic methods in species identification of wolf helminth fauna. 3rd International Scientific and Practical Internet Conference “Integration of education, science and business in modern environment: summer debates”.

5. Rabiga Uakhit, Vladimir Kiyan, Lyudmila Lider. Identification of species *taenia* (Cestoda: Taeniidae) isolates from wolf. II Международная научно-практическая конференция «Issues of practice and science». Лондон, Великобритания, 2021, -с. 195-198.

6. Uakhit R.S., Kiyan V.S., Smagulova A.M. Genetic identification of helminthiasis in wild carnivores. Материалы Международной научной конференции «Зоологические исследования в Казахстане в XXI веке: итоги, проблемы и перспективы», посвященной 90-летию РГП «Институт зоологии» КН МНВО РК. Алматы, 2023. – С. 101-107.

7. Rabiga Uakhit, Lyudmila Lider, Sergey Leontyev, and Vladimir Kiyan. Molecular identification of *Echinococcus* spp. in Kazakhstan wolves. Международная научная конференция «XXIV Сатпаевские чтения», посвященная 125-летию академика Каныша Сатпаева, Павлодар, 2024, - С. 340-342.

8. Уахит Р.С., Киян В.С., Лидер Л.А., Смагулова А.М. Genetic diversity of echinococcosis in the Republic of Kazakhstan // Тезисы докладов VII Всероссийского конгресса по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии (XXVI Кашкинские чтения). – Т. 25, №2. – Санкт-Петербург, 2023. – С. 123.

9. Uakhit R.S., Mannapova N.E., Jazina K.T. Preliminary study of echinococcus species distribution in Kazakhstan // Материалы международной научно-практической конференции «Сейфуллинские чтения – 19», Astana, 2023. Vol. 1, part 2, p. 88-90.

10. Полученные научные результаты были использованы в разработке методических рекомендаций по способам молекулярной идентификации гельминтов волков, методические рекомендации утверждены на заседании ученого совета ТОО «Национальный центр биотехнологии», протокол № 20 от «16» октября 2024 г. «Методические рекомендации по способам молекулярной идентификации гельминтов волков» / Подгот. Уахит Р.С., Киян В.С./ ТОО «Национальный центр биотехнологии», МЗ РК. – Астана, 2024. – 27 с.

14. Описание вклада докторанта

Докторантом лично проведена подготовка и лабораторное исследование биологического материала, включающего гельминтологическое вскрытие и морфологическую идентификацию паразитов. Выполнена модификация

протоколов выделения ДНК из различных видов гельминтов, подбор оптимальных условий для ПЦР-амплификации и секвенирования. Докторант участвовал в разработке праймеров и постановке реакций на маркерные участки генома паразитов, а также провела биоинформатический анализ нуклеотидных последовательностей и построение филогенетических деревьев.

Все этапы работы — от постановки задач, проведения эпизоотологического мониторинга до интерпретации результатов и написания научных статей — выполнены под научным руководством, с активным личным участием докторанта, что свидетельствует о ее высокой исследовательской самостоятельности и квалификации в области ветеринарной паразитологии и молекулярной диагностики.

Список литературы:

1. World Population Review. Gray wolf population by country. World Population Review, 2024. Available at: <https://worldpopulationreview.com/country-rankings/gray-wolf-population-by-country> (Accessed November 10, 2024).
2. World Population Review. Red fox population by country. World Population Review, 2024. Available at: <https://worldpopulationreview.com/country-rankings/fox-population-by-country> (Accessed November 10, 2024).
3. Stronen A.V., Molnar B., Ciucci P., Darimont C.T., Grotoli L., Paquet P.C., Sallows T., Smits J.E.G., Bryan H.M. Cross-continental comparison of parasite communities in a wide-ranging carnivore suggests associations with prey diversity and host density. *Ecol. Evol.*, 2021. – Vol. 11(15): p. 10338–10352. <https://doi.org/10.1002/ece3.7837>.
4. Леонтьев С.В. Состояние волка как биологического ресурса в Казахстане. Вестник НГАУ, 2018. – Вып. 1: с. 80–87.
5. Brandell E.E., Jackson M.K., Cross P.C., Piaggio A.J., Taylor D.R., Smith D.W., Boufana B., Stahler D.R., Hudson P.J. Evaluating noninvasive methods for estimating cestode prevalence in a wild carnivore population. *PLoS One*, 2022. – Vol. 17(11): e0277420.
6. Craig H.L., Craig P.S. Helminth parasites of wolves (*Canis lupus*): a species list and an analysis of published prevalence studies in Nearctic and Palaearctic populations. *Journal of Helminthology*, 2005. – Vol. 79(2): p. 95–103. <https://doi.org/10.1079/joh2005282>.
7. Bagraade G., Kirjusina M., Vismanis K., Ozoliņš J. Helminth parasites of the wolf (*Canis lupus*) from Latvia. *Journal of Helminthology*, 2009. – Vol. 83(1): p. 63–68.
8. Сулейменов М.Ж., Абдыбекова А.М., Тлепов А.А., Туганбаев А., Джусупбекова Н.М. Распространение возбудителей паразитарных зоонозов в Казахстане // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. – М. – 2014. – Т. 15. – С. 296-298
9. Ahmed M., Singh M.N., Bera A.K., Bandyopadhyay S., Bhattacharya D. Molecular basis for identification of species/isolates of gastrointestinal nematode parasites // *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. – 2011. – P. 589-593.
10. Bisset, S.A., Knight, J.S., Bouchet, C.L.G., A multiplex PCR-based method to identify strongylid parasite larval recovered from ovine faecal cultures and/or pasture

samples // *Veterinary Parasitol.* – 2014. – P. 117-127.

11. Siyadatpanah A., Pagheh A.S., Daryani A., Sarvi S., Hosseini S.A., Norouzi R., Boundenga L., Tabatabaie F., Pereira M.L., Gholami S., Nissapatorn V. Parasitic helminth infections of dogs, wolves, foxes, and golden jackals in Mazandaran province, North of Iran. *Veterinary World*, 2020. – Vol. 13(12): p. 2643–2648.

12. Juránková J., Hulva P., Bolfíková B.Č., Hrazdilová K., Frgelecová L., Daněk O., Modrý D. Identification of tapeworm species in genetically characterised grey wolves recolonising central Europe. *Acta Parasitologica*, 2021. – Vol. 66(3): p. 1063–1067.

13. Xie Y., Li Y., Gu X., Liu Y., Zhou X., Wang L., He R., Peng X., Yang G. Molecular characterization of ascaridoid parasites from captive wild carnivores in China using ribosomal and mitochondrial sequences. *Parasites & Vectors*, 2020. – Vol. 13(1): 382. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04254-4>.

14. Abdybekova A.M., Torgerson P.R. Frequency distributions of helminths of wolves in Kazakhstan. *Veterinary Parasitology*, 2012. – Vol. 184(2–4): p. 348–351. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.09.004>.

15. Skrjabin K.I. Method of complete helminthological dissection of vertebrates, including humans. Moscow: State University, 1928. – p. 40–48.

16. О состоянии волков в Казахстане. Ассоциация сохранения биоразнообразия Казахстана (ACBK), 2022. Доступно по ссылке: <https://www.acbk.kz/article/default/view?id=574>. Дата обращения: 14-03-2024.

17. Lider L.A., Leontyev S.V., Akibekov O.S., Ussenbayev A.E., Seytkamzina D.M., Erzhanova N., Uakhit R. Helminth fauna of wild Canidae in Kazakhstan. Materials of the International Scientific and Practical Conference “Intensification of Hunting and Development of National Types of Hunting”, 2019. – Vol. 1: p. 54–57.

18. Uakhit R., Smagulova A., Lider L., Leont’ev S., Berber A., Kiyan V. Species composition of wolf (*Canis lupus*) helminth fauna in Kazakhstan. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*, 2022. – Issue 1: p. 49–58. <https://doi.org/10.11134/btp.1.2022.6>.

19. Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 2021. – Vol. 38(7): p. 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>.

20. Karadjian G, Heckmann A, Rosa G, Pozio E, Boireau P, Vallée I. Molecular identification of *Trichinella* species by multiplex PCR: new insight for *Trichinella murrelli*. *Parasite*. (2017) 24:52. doi: 10.1051/parasite/2017053

21. Bilska-Zajac E, Rózycki M, Chmurzyńska E, Antolak E, Próchniak M, Grądziel-Krukowska K, et al. First case of *Trichinella nativa* infection in wild boar in Central Europe – molecular characterization of the parasite. *Parasitol Res.* (2017) 116:1705–11. doi: 10.1007/s00436-017-5446-6

22. Jacobs DE, Zhu X, Gasser RB, Chilton NB. PCR-based methods for identification of potentially zoonotic ascaridoid parasites of the dog, fox and cat. *Acta Trop.* (1997) 68:191–200. doi: 10.1016/s0001-706x(97)00093-4

23. Bowles, J. and McManus, D.P. (1994) Genetic characterization of the Asian *Taenia*, a newly described taeniid cestode of humans. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 50(1): 33–44. Hüttner, M., Nakao, M., Wassermann, T., Siefert, L., Boomker, J.D., Dinkel, A., Sako, Y., Mackenstedt, U., Romig, T. and Ito, A. (2008) Genetic characterization and phylogenetic position of *Echinococcus felidis* (Cestoda: Taeniidae) from the African lion.

