

Проблемы диагностики малярии

И.Ю.Щит, П.В.Соловьев, С.Ф.Бикетов

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора,
Оболенск, Московская область, Российская Федерация

В статье рассматриваются проблемы диагностики низкоуровневой малярийной инфекции (субмикроскопической паразитемии) и устойчивости малярийного плазмодия к основному терапевтическому препарату артемизинину. Обсуждаются будущие направления исследований. Понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе устойчивости к артемизинину, ускорит внедрение научных результатов для решения проблем, связанных с малярийной инфекцией.

Ключевые слова: петлевая изотермическая амплификация, LAMP, малярия, *Plasmodium*

Для цитирования: Щит И.Ю., Соловьев П.В., Бикетов С.Ф. Проблемы диагностики малярии. Бактериология. 2023; 8(4): 63–66. DOI: 10.20953/2500-1027-2023-4-63-66

Problems of malaria diagnostics

I.Yu.Shchit, P.V.Soloviev, S.F.Biketov

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Moscow Region,
Russian Federation

The article addresses the issue of diagnosing low-level malaria infection (submicroscopic parasitemia) and the resistance of human malaria parasite species to the main therapeutic agent artemisinin. Future research directions are discussed. Understanding of the molecular mechanisms underlying artemisinin resistance will accelerate implementation of scientific findings to solve problems with malarial infection.

Key words: loop mediated isothermal amplification, LAMP, malaria, *Plasmodium*

For citation: Shchit I.Yu., Soloviev P.V., Biketov S.F. Problems of malaria diagnostics. Bacteriology. 2023; 8(4): 63–66. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2023-4-63-66

Малярия по-прежнему представляет собой серьезную угрозу здоровью людей во всем мире, особенно в эндемичных регионах. Несмотря на появление новых средств химиотерапии и мер борьбы с переносчиками малярии (комарами рода *Anopheles*), уровень заболеваемости и смертности среди людей во всем мире очень высок [1]. В странах, эндемичных по малярии, попытки ликвидировать заболевание столкнулись с рядом трудностей, таких как устойчивость паразитов к лекарственным препаратам, зоонозы и пандемия COVID-19. Согласно отчету Всемирной организации здравоохранения за 2021 г., заболеваемость малярией выросла с 221 млн случаев в 2019 г. до 247 млн случаев в 2020 г., что значительно выше, чем в 2015 г., когда заболеваемость существенно снизилась по сравнению с 2000 г. Более 100 стран, половина из которых находится в Африке, являются неблагоприятными по малярии. Очаги массового заболевания распространены в Юго-Восточной

Азии, Восточном Средиземноморье, Западной части Тихого океана и Америке. Ежегодно на территории России регистрируются завозные случаи малярии из стран ближнего и дальнего зарубежья, где активно действуют очаги малярии. Местные завозные случаи заболевания регистрировались на территориях Москвы, Московской, Ростовской, Самарской, Оренбургской, Нижегородской и Рязанской областей, в Республике Татарстан и Красноярском крае. Условия для формирования местного малярийного очага имеются на территории Пермского края.

Малярия – инфекционное заболевание, вызываемое простейшим паразитом *Plasmodium* spp., которое передается человеку при укусе самки комара *Anopheles*, инфицированной плазмодием. Малярийные комары распространены почти повсеместно, но больше всего в странах с тропическим климатом. Они размножаются в стоячих, хорошо прогреваемых водоемах, где сохраняются благоприятные усло-

Для корреспонденции:

Щит Ирина Юрьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0065

Статья поступила 10.10.2023, принята к печати 25.12.2023

For correspondence:

Irina Yu. Shchit, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher, Department of Immunobiochemistry of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Address: 24 «Quarter A» Territory, Obolensk, City District Serpukhov, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0065

The article was received 10.10.2023, accepted for publication 25.12.2023

вия – повышенная влажность и высокая температура воздуха. В России малярийные комары обитают на всей европейской территории страны и в Западной Сибири, кроме полярных и приполярных широт.

Типичными симптомами малярии являются повторяющиеся приступы лихорадки (температура поднимается внезапно с чередованием падений и подъемов), озноб, недомогание, слабость, головная боль и другие гриппоподобные симптомы, боли во всем теле (мышечные, суставные, поясничные), боли в животе, нарушения со стороны нервной и других систем организма [2]. У больного отмечаются сухость во рту, тошнота, рвота, диарея, судороги, анемия. К тяжелым осложнениям заболевания относятся церебральная форма (малярийная кома), инфекционно-токсический шок (малярийный алгид), гемоглобинурийная лихорадка, острый респираторный дистресс-синдром, острый отек легких, нефротический синдром, острая почечная недостаточность, острая печеночная недостаточность, разрыв селезенки. Инфицирование плазмодием может привести к смерти, если не диагностировать возбудитель вовремя и не начать незамедлительное лечение. Особенно подвержены риску младенцы, маленькие дети, беременные женщины и их нерожденные дети, пожилые люди и путешественники из эндемичных по малярии стран [3–5].

Малярию у человека вызывают пять видов *Plasmodium*: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* и *P. knowlesi*. *P. falciparum* вызывает наиболее опасную форму заболевания, часто протекающую с осложнениями и имеющую высокую смертность. *P. vivax*, *P. ovale*, и *P. malariae* обычно не нарушают функции жизненно важных органов; смертельные случаи редки. Полный спектр клинических проявлений малярии встречается при инфицировании *P. knowlesi*. Его короткий вегетативный цикл репликации может привести к высокой паразитемии и при отсутствии лечения – к тяжелому, потенциально смертельному заболеванию.

Диагностика заболевания проводится с помощью световой микроскопии (толстой капли и тонкого мазка крови, окрашенных по Романовскому–Гимзе), экспресс-диагностики крови, полимеразной цепной реакции (ПЦР) и видоспецифических исследований ДНК. В настоящее время золотым стандартом диагностики малярии по-прежнему остается микроскопическое исследование мазков крови для обнаружения эритроцитарных форм паразитов. Однако микроскопия – сравнительно трудоемкий метод, который требует квалифицированного персонала, специального оборудования и реактивов. Диагностику также осуществляют с помощью экспресс-диагностических тестов (БДТ), выявляющих специфические антигены (чаще всего богатый гистидином белок 2 (pHRP-2)). Чувствительность БДТ сравнима с микроскопией, эти тесты более дорогие, но не требуют использования микроскопа и дают результат через 5–15 мин. К недостаткам экспресс-тестов можно отнести растущее число ложноотрицательных результатов, которые возникают из-за делеции в гене pHRP-2 малярийного плазмодия [6]. Кроме того, вполне надежны эти тесты бывают лишь при паразитемии примерно от 2000 паразитов/мкл, быстро теряют свойство во время хранения при температуре >30°C.

В сельской местности и районах, далеких от медицинских учреждений, основными проблемами, которые могут приве-

сти к ошибочному диагнозу, являются отсутствие хороших диагностических средств, неподготовленность микробиологов и большая доля низкоуровневых инфекций (<100 паразитов/мкл крови).

ПЦР способна идентифицировать минимальных количество плазмодиев в крови, ее чувствительность значительно выше, чем у микроскопии, реакция способна выявить субклиническую паразитемию и смешанную инфекцию [7]. Однако стоимость ПЦР-исследования в примерно 10 раз превышает стоимость анализа с помощью экспресс-теста [8]. Дорогостоящее оборудование, необходимость квалифицированного персонала делают метод ПЦР труднодоступным для небольших больниц и медпунктов, а также практически неосуществимым в полевых условиях.

Альтернативой ПЦР служат новые инструменты молекулярной диагностики, включающие методы изотермической амплификации, среди которых наиболее перспективными выглядят рекомбиназная полимеразная амплификация (RPA) и петлевая изотермическая амплификация (LAMP). LAMP представляет собой самоповторяющийся в изотермических условиях синтез ДНК, осуществляемый с помощью фермента ДНК-полимеразы со смещением цепи. С появлением этого метода в диагностике малярии появились новые перспективы: достаточная чувствительность для выявления низкоуровневой инфекции, применимость в полевых условиях и в странах с ограниченными ресурсами [9–11].

LAMP-анализ был использован для обнаружения *Plasmodium* spp. в крови с высокой чувствительностью и специфичностью [12–17]. В настоящее время на рынке доступны 2 коммерческих набора для детекции малярии: «LoopAmp malaria (Pan/Pf) detection kit» (Eiken Chemical Company, Япония) и «Illumigene malaria LAMP assay» (Meridian Biosciences, США). Результаты испытаний обоих наборов оказались не столь однозначны. Оба теста показали перекрестные реакции при видоспецифичной идентификации. Так набор «LoopAmp malaria Pf detection kit» в 3,9% (8/205) случаев показал положительную реакцию с образцами *P. vivax*, выявленными с помощью ПЦР, а набор «LoopAmp malaria Pv detection kit» в 7,22% (13/180) случаев показал положительную реакцию с образцами *P. falciparum*, обнаруженными с помощью ПЦР [18]. Поиск альтернативных мишеней для LAMP-анализа остается насущной проблемой.

Существенным препятствием в борьбе с малярией стало появление устойчивых к противомаларийным препаратам плазмодиев. Класс препаратов артемизинина (артесунат, артеметер и дигидроартемизинин) остается наиболее мощным и быстродействующим противомаларийным средством. Артемизинин обычно приводит к снижению паразитемии примерно в 10^3 – 10^4 раза за жизненный цикл плазмодия, составляющий 48 ч. Появление паразитов, резистентных к артемизинину и его производным, привело к неэффективности лечения с помощью этих препаратов. Устойчивость паразитов является результатом генетических изменений, которые приводят к снижению восприимчивости к лекарствам. Чаще всего мутации происходят в гене *kelch13*, который кодирует белок Kelch13, играющий важную роль в реакции паразита на окислительный стресс [19]. Это позволяет мутировавшему паразиту размножаться при воздействии терапевтических доз лекарственного препарата и оставаться в организме хо-

зияна на субмикроскопическом уровне, затрудняя диагностику. Десятилетия предшествующей монотерапии на основе артемизинина привели к появлению устойчивых к этим препаратам паразитов, которые в настоящее время широко распространены по всей материковой части Юго-Восточной Азии, что привело к замедленному уничтожению *P. falciparum* с мутацией Kelch13 по сравнению с плазмодием дикого типа [20–23]. На текущий момент устойчивость к артемизинину наблюдается в Индии [24–25], Южной Америке [26] и на Африканском континенте в Уганде и Руанде [27–29].

Всемирной организацией здравоохранения рекомендована комбинированная терапия на основе артемизинина (АКТ) в качестве средства терапии первой линии. При инфицировании *P. falciparum* малярию лечат артемизинином с мефлохином и примахином в качестве сопутствующего препарата, а в случае *P. vivax* – хлорохином и примахином для уничтожения эритроцитарных форм возбудителей и устранения тканевых форм плазмодия (гипнозоитов), соответственно [30]. Поэтому видоспецифическое определение *Plasmodium* во время диагностики имеет решающее значение для адекватного лечения в районах, где сосуществуют *P. vivax* и *P. falciparum*.

Ситуация осложняется появлением паразитов с множественной лекарственной устойчивостью, что привело к высокой частоте неудач при применении АКТ в западной Камбодже и близлежащих регионах, таких как северо-восточный Таиланд и южный Вьетнам [31–33]. В Индии многолетние исследования изолятов *P. falciparum* со всей страны показали снижение *in vitro* чувствительности к артемизинину уже в 2012 г. [24] и сообщалось о снижении клинической эффективности терапии артезунат-сульфадоксин-пириметамин [34–35]. Артемизинин является наиболее важным противомалярийным препаратом и остается важнейшим инструментом для программ элиминации возбудителя и ликвидации малярии во всем мире. Следует отметить, что помимо чувствительности паразитов к лекарственным препаратам на результаты лечения влияют и другие факторы, такие как приобретенный пациентом иммунитет (особенно у взрослых больных в эндемичных регионах), инфицирующая доза паразита, восприимчивость к лечению, дозировка лекарства, качество препарата и фармакокинетика [36]. Поэтому крайне важно понять, где географически возникает устойчивость, а также различные механизмы устойчивости и взаимодействия паразит–хозяин, связанные со снижением чувствительности к лекарственным средствам. Для снижения устойчивости к артемизинину необходимы клинические исследования и эпидемиологический надзор. Чтобы лучше контролировать малярию в различных регионах, необходимы новые высокочувствительные инструменты для обнаружения низкого уровня плазмодия в крови. В частности, метод LAMP показал лучшую эффективность при выявлении так называемых субмикроскопических и бессимптомных инфекций по сравнению с микроскопической оценкой и тестами экспресс-диагностики. Кроме того, молекулярные методы, основанные на изотермической амплификации, такие как LAMP и RPA, имеют потенциал для диагностики малярии в полевых условиях, поскольку не требуют лабораторного оборудования, а результаты можно обнаружить визуально с помощью различных методов.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Funding information

The work was carried out within the framework of the industry program of Rosпотребнадзор.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература / References

1. Hanboonkunupakarn B, White NJ. Advances and roadblocks in the treatment of malaria. *Br J Clin Pharmacol*. 2022 Feb;88(2):374–382. DOI: 10.1111/bcp.14474
2. Noreen N, Ullah A, Salman SM, Mabkhot Y, Alsayari A, Badshah SL. New insights into the spread of resistance to artemisinin and its analogues. *J Glob Antimicrob Resist*. 2021 Dec;27:142–149. DOI: 10.1016/j.jgar.2021.09.001
3. Fried M, Duffy PE. Malaria during Pregnancy. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2017 Jun 1;7(6):a025551. DOI: 10.1101/cshperspect.a025551
4. Nureye D, Assefa S. Old and recent advances in life cycle, pathogenesis, diagnosis, prevention, and treatment of malaria including perspectives in Ethiopia. *Sci. World J*. 2020. e1295381. DOI: 10.1155/2020/1295381
5. Graça L, Abreu IG, Santos AS, Graça L, Dias PF, Santos ML. Descriptive Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) in adults with imported severe *Plasmodium falciparum* malaria: A 10 year-study in a Portuguese tertiary care hospital. *PLoS One*. 2020 Jul 9;15(7):e0235437. DOI: 10.1371/journal.pone.0235437
6. Wilson ML. Malaria rapid diagnostic tests. *Clin Infect Dis*. 2012 Jun;54(11):1637–41. DOI: 10.1093/cid/cis228
7. Belachew M, Wolde M, Nega D, Gidey B, Negash L, Assefa A, et al. Evaluating performance of multiplex real time PCR for the diagnosis of malaria at elimination targeted low transmission settings of Ethiopia. *Malar J*. 2022 Jan 6;21(1):9. DOI: 10.1186/s12936-021-04029-x
8. Oriero EC, Jacobs J, Van Geertruyden JP, Nwakanma D, D'Alessandro U. Molecular-based isothermal tests for field diagnosis of malaria and their potential contribution to malaria elimination. *J Antimicrob Chemother*. 2015 Jan;70(1):2–13. DOI: 10.1093/jac/dku343
9. Han ET. Loop-mediated isothermal amplification test for the molecular diagnosis of malaria. *Expert Rev Mol Diagn*. 2013 Mar;13(2):205–18. DOI: 10.1586/erm.12.144
10. Aydin-Schmidt B, Xu W, González IJ, Polley SD, Bell D, Shakely D, et al. Loop mediated isothermal amplification (LAMP) accurately detects malaria DNA from filter paper blood samples of low density parasitaemias. *PLoS One*. 2014 Aug 8;9(8):e103905. DOI: 10.1371/journal.pone.0103905
11. Modak SS, Barber CA, Geva E, Abrams WR, Malamud D, Ongagna YS. Rapid Point-of-Care Isothermal Amplification Assay for the Detection of Malaria without Nucleic Acid Purification. *Infect Dis (Auckl)*. 2016 Jan 20;9:1–9. DOI: 10.4137/IDRT.S32162
12. Poon LL, Wong BW, Ma EH, Chan KH, Chow LM, Abeyewickreme W, et al. Sensitive and inexpensive molecular test for falciparum malaria: detecting *Plasmodium falciparum* DNA directly from heat-treated blood by loop-mediated isothermal amplification. *Clin Chem*. 2006 Feb;52(2):303–6. DOI: 10.1373/clinchem.2005.057901
13. Chen JH, Lu F, Lim CS, Kim JY, Ahn HJ, Suh IB, et al. Detection of *Plasmodium vivax* infection in the Republic of Korea by loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *Acta Trop*. 2010 Jan;113(1):61–5. DOI: 10.1016/j.actatropica.2009.09.007

14. Polley SD, Mori Y, Watson J, Perkins MD, González IJ, Notomi T, Chiodini PL, Sutherland CJ. Mitochondrial DNA targets increase sensitivity of malaria detection using loop-mediated isothermal amplification. *J Clin Microbiol.* 2010 Aug;48(8):2866-71. DOI: 10.1128/JCM.00355-10
15. Han ET, Watanabe R, Sattabongkot J, Khuntirat B, Sirichaisinthop J, Iriko H, et al. Detection of four *Plasmodium* species by genus- and species-specific loop-mediated isothermal amplification for clinical diagnosis. *J Clin Microbiol.* 2007 Aug;45(8):2521-8. DOI: 10.1128/JCM.02117-06
16. Paris DH, Imwong M, Faiz AM, Hasan M, Yunus EB, Silamut K, Lee SJ, Day NP, Dondorp AM. Loop-mediated isothermal PCR (LAMP) for the diagnosis of falciparum malaria. *Am J Trop Med Hyg.* 2007 Nov;77(5):972-6.
17. Pöschl B, Waneesorn J, Thekiso O, Chutipongvivate S, Karanis P. Comparative diagnosis of malaria infections by microscopy, nested PCR, and LAMP in northern Thailand. *Am J Trop Med Hyg.* 2010 Jul;83(1):56-60. DOI: 10.4269/ajtmh.2010.09-0630
18. Barazorda KA, Salas CJ, Bishop DK, Lucchi N, Valdivia HO. Comparison of realtime and malachite-green based loop-mediated isothermal amplification assays for the detection of *Plasmodium vivax* and *P. falciparum*. *PLoS ONE.* 2020;15(6):e0234263. DOI: 10.1371/journal.pone.0234263
19. Coppée R, Jeffares DC, Miteva MA, Sabbagh A, Clain J. Comparative structural and evolutionary analyses predict functional sites in the artemisinin resistance malaria protein K13. *Sci Rep.* 2019 Jul 23;9(1):10675. DOI: 10.1038/s41598-019-47034-6
20. Ariev F, Witkowski B, Amaratunga C, Beghain J, Langlois AC, Khim N, et al. A molecular marker of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature.* 2014 Jan 2;505(7481):50-5. DOI: 10.1038/nature12876
21. Ashley EA, Dhorda M, Fairhurst RM, Amaratunga C, Lim P, Suon S, et al; Tracking Resistance to Artemisinin Collaboration (TRAC). Spread of artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *N Engl J Med.* 2014 Jul 31;371(5):411-23. DOI: 10.1056/NEJMoa1314981
22. Kagoro FM, Barnes KI, Marsh K, Ekipirat N, Mercado CEG, Sinha I, et al. Mapping genetic markers of artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria in Asia: a systematic review and spatiotemporal analysis. *Lancet Microbe.* 2022 Mar;3(3):e184-e192. DOI: 10.1016/S2666-5247(21)00249-4
23. Zhu L, van der Pluijm RW, Kucharski M, Nayak S, Tripathi J, White NJ, et al. Artemisinin resistance in the malaria parasite, *Plasmodium falciparum*, originates from its initial transcriptional response. *Commun Biol.* 2022 Mar 28;5(1):274. DOI: 10.1038/s42003-022-03215-0
24. Chakrabarti R, White J, Babar PH, Kumar S, Mudeppa DG, Mascarenhas A, et al. Decreased *In Vitro* Artemisinin Sensitivity of *Plasmodium falciparum* across India. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019 Sep 23;63(10):e00101-19. DOI: 10.1128/AAC.00101-19
25. Das S, Manna S, Saha B, Hati AK, Roy S. Novel *pfkelch13* Gene Polymorphism Associates With Artemisinin Resistance in Eastern India. *Clin Infect Dis.* 2019 Sep 13;69(7):1144-1152. DOI: 10.1093/cid/ciy1038
26. Mathieu LC, Singh P, Monteiro WM, Magris M, Cox H, Lazrek Y, et al. *Kelch13* mutations in *Plasmodium falciparum* and risk of spreading in Amazon basin countries. *J Antimicrob Chemother.* 2021 Oct 11;76(11):2854-2862. DOI: 10.1093/jac/dkab264
27. Uwimana A, Legrand E, Stokes BH, Ndikumana JM, Warsame M, Umulisa N, et al. Emergence and clonal expansion of *in vitro* artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum kelch13* R561H mutant parasites in Rwanda. *Nat Med.* 2020 Oct;26(10):1602-1608. DOI: 10.1038/s41591-020-1005-2
28. Balikagala B, Fukuda N, Ikeda M, Katuru OT, Tachibana SI, Yamauchi M, et al. Evidence of Artemisinin-Resistant Malaria in Africa. *N Engl J Med.* 2021 Sep 23;385(13):1163-1171. DOI: 10.1056/NEJMoa2101746
29. Uwimana A, Umulisa N, Venkatesan M, Svigel SS, Zhou Z, Munyaneza T, et al. Association of *Plasmodium falciparum kelch13* R561H genotypes with delayed parasite clearance in Rwanda: an open-label, single-arm, multicentre, therapeutic efficacy study. *Lancet Infect Dis.* 2021 Aug;21(8):1120-1128. DOI: 10.1016/S1473-3099(21)00142-0
30. Ministerio de Salud del Perú. Norma técnica para la atención de la malaria y malaria severa en el Perú. NTS Nro. 054-MINSA/DGSP-V.01, modificada en Febrero 2015. MINSA; 2015. <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/4373.pdf>. Accessed 17 Mar 2021.
31. Amato R, Lim P, Miotto O, Amaratunga C, Dek D, Pearson RD, et al. Genetic markers associated with dihydroartemisinin-piperaquine failure in *Plasmodium falciparum* malaria in Cambodia: a genotype-phenotype association study. *Lancet Infect Dis.* 2017 Feb;17(2):164-173. DOI: 10.1016/S1473-3099(16)30409-1
32. Witkowski B, Duru V, Khim N, Ross LS, Saintpierre B, Beghain J, et al. A surrogate marker of piperaquine-resistant *Plasmodium falciparum* malaria: a phenotype-genotype association study. *Lancet Infect Dis.* 2017 Feb;17(2):174-183. DOI: 10.1016/S1473-3099(16)30415-7
33. Van der Pluijm RW, Imwong M, Chau NH, Hoa NT, Thuy-Nhien NT, Thanh NV, et al. Determinants of dihydroartemisinin-piperaquine treatment failure in *Plasmodium falciparum* malaria in Cambodia, Thailand, and Vietnam: a prospective clinical, pharmacological, and genetic study. *Lancet Infect Dis.* 2019 Sep;19(9):952-961. DOI: 10.1016/S1473-3099(19)30391-3
34. Mishra N, Kaitholia K, Srivastava B, Shah NK, Narayan JP, Dev V, Phookan S, Anvikar AR, Rana R, Bharti RS, Sonal GS, Dhariwal AC, Valecha N. Declining efficacy of artesunate plus sulphadoxine-pyrimethamine in northeastern India. *Malar J.* 2014 Jul 22;13:284. DOI: 10.1186/1475-2875-13-284
35. Das S, Kar A, Manna S, Mandal S, Mandal S, Das S, et al. Artemisinin combination therapy fails even in the absence of *Plasmodium falciparum kelch13* gene polymorphism in Central India. *Sci Rep.* 2021 May 11;11(1):9946. DOI: 10.1038/s41598-021-89295-0
36. World Health Organization (2021). World malaria report 2021. Geneva: World Health Organization.

Информация о соавторах:

Соловьев Павел Владимирович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Бикетов Сергей Фёдорович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела иммунобиохимии патогенных микроорганизмов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Information about co-authors:

Pavel V. Soloviev, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher, of Department of Immunobiology of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Sergey F. Biketov, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher of the Department of Immunobiology of Pathogenic Microorganisms, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор