

УДК 616.379-008.64-092-9:633.88

М.Р. Хохла, Г.Я. Клевета, Я.П. Чайка,  
М.І. Скибіцька, Н.О. Сибірна**ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ, ОТРИМАНОВОГО  
З ЕКСТРАКТУ ГАЛЕГИ ЛІКАРСЬКОЇ  
(GALEGA OFFICINALIS L.)  
НА ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ  
ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ  
ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО  
ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ***Львівський національний університет  
імені Івана Франка, біологічний факультет,  
кафедра біохімії, Україна*

Цукровий діабет є однією з основних причин смертності серед населення на сьогоднішній день. За даними експертів ВООЗ, до 2025 р. у світі буде налічуватися більше 300 млн. хворих на діабет, з яких 10% складатимуть хворі на діабет 1 типу [5]. Гостроту проблеми цукрового діабету (ЦД) визначає не лише його значне поширення, але й надто швидкий розвиток ускладнень, які спричиняють інвалідність хворих та летальні наслідки.

Згідно з сучасними даними, в патогенезі ускладнень ЦД, окрім гіперглікемії, недостатності функцій β-клітин, інсулінової резистентності, залучені додаткові групи факторів ризику — запалення та структурно-функціональні порушення системи крові. Тому під час вибору антидіабетичних препаратів слід враховувати не тільки їх цукрознижувальну ефективність, а й вплив на функціональний стан клітин крові.

Стрімке зростання захворюваності на ЦД зумовлює необхідність пошуку і створення нових ефективних препаратів. До лікарських рослин, які виявляють найбільш виражену цукрознижувальну дію та використовуються у клінічній діабетології належить галега лікарська (козлятник лікарський), *Galega officinalis L.* Препарати та прості лікувальні форми з трави козлятника лікарського досить давно застосовують у народній медицині, однак потребують більш детального вивчення [7].

Метою роботи було — дослідження показників загального клінічного аналізу крові, а саме —

кількості еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, концентрації гемоглобіну, лейкоцитарної формули за умов експериментального ЦД на фоні введення препарату, отриманого з екстракту Галеги лікарської (у дозі 0,6 г/кг маси тіла тварини).

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ**

Досліди проведено на білих безпородних щурах масою тіла 100–150 г, яких утримували в стандартних умовах віварію з дотриманням загальних етичних принципів проведення експериментів на тваринах, ухвалених національним конгресом з біоетики (Київ, 2000).

Експериментальний ЦД 1 типу індукували внутрішньочеревним введенням стрептозотозину, який є нітрозопохідним глюкозаміну (“Sigma”, США) з розрахунку 5,5 мг на 100 г маси тіла. Для експерименту використовували тварин з рівнем глюкози  $14,09 \pm 1,44$  ммоль/л (після 18-годинного голодування). Концентрацію глюкози в крові визначали глюкозооксидазним методом (набір реактивів “Діаглюк” для визначення концентрації глюкози люб’язно надано проф. М.В. Гончарем (Інститут біології клітини НАН України, м. Львів)). Через два тижні після індукції ЦД тваринам *reg os* вводили препарат, отриманий з екстракту Галеги лікарської у концентрації 0,6 г/кг маси тіла впродовж 12 діб.

Траву галеги лікарської (інтродуковану у ботанічному саду Львівського національного університету імені Івана Франка) збирали в період цвітіння, висушували. З надземної частини виготовляли спиртовий екстракт шляхом настоювання у 96% етиловому спирті (підкисленому 0,1 н соляною кислотою до рН 2) впродовж 12 год у співвідношенні 1:5 при кімнатній температурі. Екстракт упарювали у вакуумі за допомогою роторного випарювача LABOROTA 400 (Heidolph, Німеччина) при температурі 40–45°C. До максимально упареного вихідного спиртового екстракту масою 6 г додавали 15 мл H<sub>2</sub>O (до отримання однорідної маси) та рівний об’єм хлороформу. Після струшування зразки центрифугували впродовж 10 хв при 1500 об./хв. Отриманий залишок розділяли на алкалоїдвмісну (водну) та безалкалоїдну (хлороформну) фракції. Наявність алкалоїдів у водній фракції та їхню відсутність

у хлороформній фракції підтверджували якісними реакціями (реактив Драгендорфа, реактив Бушарда, 1% пікринова кислота) [6]. Для досліджень використовували безалкалоїдну фракцію, яку назвали препарат галеги лікарської.

Кількість еритроцитів, тромбоцитів та лейкоцитів визначали уніфікованими методами підрахунку в камері Горяєва [4], вміст загального гемоглобіну (Hb) визначали ціанметгемоглобіновим методом [4], вміст фетального (лужностійкого) гемоглобіну (HbF) — методом К. Зінгера у модифікації Н.О. Сибірної [4], лейкоцитарну формулу визначали у пофарбованих за Романовським-Гімзою мазках периферичної крові [4].

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Експериментальні дані, проведених нами гематологічних досліджень вказують на відсутність вірогідно значимих змін в кількості еритроцитів, лейкоцитів та концентрації загального гемоглобіну у периферичній крові щурів за умов експериментального цукрового діабету (ЕЦД), порівняно з контролем. Водночас у діабетичних тварин підвищується вміст фетального гемоглобіну на 85,88% щодо контролю (табл. 1), що є компенсаторною реакцією системи еритроноу на гіпоксію, яка виникає при ЦД [2].

Введення препарату галеги лікарської суттєво не впливало на кількість еритроцитів, лейкоцитів та вміст загального гемоглобіну у здорових та діабетичних тварин (табл. 1, 2). За умов ЦД застосування препарату приводить до зниження вмісту лужностійкого гемоглобіну на 18,50% (3 доба), 11,32% (6 доба), 23,41% (9 доба) та

22,99% (12 доба) щодо діабету. На 7 добу після припинення введення досліджуваного препарату вміст фетального гемоглобіну залишався нижчим на 17,57% відносно діабетичних тварин (табл. 1).

За умов введення досліджуваного препарату здоровим тваринам не відмічено вірогідних змін у кількості лужностійкого гемоглобіну (табл. 2).

У патогенезі мікро- та макроангіопатій важливе значення надається тромбоцитам, які ініціюють процес тромбоутворення та розвиток основних форм ускладнення за даної патології — ангіопатій різного генезу. У тварин з ЕЦД показано зростання кількості тромбоцитів у 1,5 рази порівняно з контролем. Відомо, що період життя тромбоцитів у пацієнтів з ЦД є меншим, а безперервне їх руйнування приводить до збільшення продукції тромбоцитів [9]. Нами відмічено зниження кількості кров'яних пластинок за умов введення препарату Галеги лікарської діабетичним тваринам на 11,61% (3 доба), 24,34% (6 доба), 17,50% (9 доба), 38,88% (12 доба). Після припинення застосування препарату кількість тромбоцитів знижувалася на 48,32% щодо діабету (табл. 1). Дванадцятиденний курс введення досліджуваного препарату здоровим тваринам не супроводжувався змінами в кількості клітин (табл. 2).

ЦД супроводжується інфекційно-запальними процесами, з яких найчастішими є бактерійні інфекції, котрі супроводжуються рецидивами і важко піддаються лікуванню. Зміни в співвідношенні лейкоцитів, порушення їхніх функцій

Таблиця 1

**Гематологічні показники периферичної крові щурів за умов експериментального цукрового діабету та введення препарату галеги лікарської (0,6 г/кг) ( $M \pm m$ ,  $n=8...10$ )**

Умови експерименту	Кількість еритроцитів в 1 мкл ( $\times 10^6$ )	Кількість лейкоцитів в 1 мкл ( $\times 10^3$ )	Кількість тромбоцитів в 1 мкл ( $\times 10^5$ )	Hb, г%	HbF, %
Контроль	7,89 $\pm$ 0,35	11,66 $\pm$ 0,99	3,96 $\pm$ 0,28	16,40 $\pm$ 0,93	14,02 $\pm$ 1,02
Діабет	7,18 $\pm$ 0,13	12,39 $\pm$ 1,5	9,83 $\pm$ 0,70*	15,86 $\pm$ 0,97	26,06 $\pm$ 2,69*
<i>Введення препарату галеги лікарської тваринам з ЕЦД</i>					
3 доба	7,46 $\pm$ 0,47	11,16 $\pm$ 1,01	8,69 $\pm$ 0,52*	14,62 $\pm$ 1,51	21,24 $\pm$ 1,89*
6 доба	7,13 $\pm$ 0,27	10,27 $\pm$ 1,33	7,44 $\pm$ 0,23***	15,58 $\pm$ 1,51	23,11 $\pm$ 1,85*
9 доба	7,06 $\pm$ 0,1*	10,94 $\pm$ 1,10	8,11 $\pm$ 0,49*	15,64 $\pm$ 1,07	19,96 $\pm$ 0,78*
12 доба	6,96 $\pm$ 0,67	10,46 $\pm$ 1,10	6,01 $\pm$ 0,67***	14,41 $\pm$ 0,66	20,07 $\pm$ 1,04
7 доба після припинення курсу введення	7,27 $\pm$ 0,24	10,60 $\pm$ 1,07	5,08 $\pm$ 0,59**	15,32 $\pm$ 1,18	21,48 $\pm$ 1,04*

**Примітка.** Тут і далі: \* — різниця вірогідна, порівняно з контролем,  $p < 0,05$ ; \*\* — різниця вірогідна, порівняно з ЕЦД,  $p < 0,05$ .

**Гематологічні показники периферичної крові щурів за умов введення препарату галегі лікарської здоровим тваринам (0,6г/кг) ( $M \pm m$ ,  $n=8...10$ )**

Умови експерименту	Кількість еритроцитів в 1 мкл ( $\times 10^6$ )	Кількість лейкоцитів в 1 мкл ( $\times 10^3$ )	Кількість тромбоцитів в 1 мкл ( $\times 10^5$ )	Нв, г%	НвF, %
Контроль	7,89 $\pm$ 0,35	11,66 $\pm$ 0,99	3,96 $\pm$ 0,28	16,40 $\pm$ 0,93	14,02 $\pm$ 1,02
<i>Введення препарату галегі лікарської здоровим тваринам</i>					
3 доба	7,13 $\pm$ 0,24	11,08 $\pm$ 0,58	4,49 $\pm$ 0,47	15,26 $\pm$ 0,89	13,35 $\pm$ 1,39
6 доба	7,16 $\pm$ 0,18	11,76 $\pm$ 0,72	4,08 $\pm$ 0,58	15,08 $\pm$ 1,59	14,29 $\pm$ 1,04
9 доба	6,97 $\pm$ 0,36	10,77 $\pm$ 1,00	4,80 $\pm$ 0,77	15,71 $\pm$ 0,86	15,01 $\pm$ 1,67
12 доба	7,05 $\pm$ 0,16*	11,68 $\pm$ 0,77	4,34 $\pm$ 0,27	16,13 $\pm$ 1,18	17,00 $\pm$ 1,2
7 доба після припинення курсу введення	5,85 $\pm$ 0,11*	10,27 $\pm$ 0,70	3,83 $\pm$ 0,11	15,18 $\pm$ 1,17	17,74 $\pm$ 1,17*

нальних властивостей є ймовірними причинами схильності хворих на ЦД до інфекційних процесів і порушення імунологічного статусу [1, 3, 7].

Зважаючи на те, що клітино опосередкована імунна відповідь — один з найважливіших чинників, що визначають активність імунної системи організму, нами було проаналізовано зміни показників лейкоцитарної формули за умов ЕЦД та введення препарату Галегі лікарської.

Показано, що за умов ЦД зменшується відсотковий вміст паличкоядерних та сегментноядерних нейтрофілів відповідно на 15,1% та 24,8% щодо контролю, на фоні збільшення кількості лімфоцитів на 7,5%. Кількість моноцитів у діабетичних тварин знижується (на 15,6%). Моноцити беруть участь у формуванні та регуляції імунної відповіді, виконуючи функцію презентації антигена лімфоцитам і слугують джерелом біологічно активних речовин, в тому числі регуляторних цитокінів. Моноцити виявляють виражену фа-

гоцитарну і бактерицидну активність [8]. Тоді як вміст базофілів та еозинофілів не відрізнявся від контрольних значень (табл. 3).

Застосування препарату галегі лікарської при діабеті призводить до нормалізації показників лейкоцитарної формули, зокрема до збільшення кількості сегментноядерних нейтрофілів на 11,0% (3 доба), 15,4% (6 доба), 31,7% (9 доба), 21,3% (12 доба) та паличкоядерних нейтрофілів відповідно на 21,3% (3 доба), 27,3% (6 доба), 24,4% (9 доба), 34,8% (12 доба). На фоні підвищення відсоткового вмісту нейтрофілів відмічено зниження кількості лімфоцитів практично до контрольних значень: на 2,1% (3 доба), 4,43% (6 доба), 5,2% (9 доба), 4,3% (12 доба). Після припинення введення досліджуваного препарату показано зменшення кількості сегментноядерних і паличкоядерних нейтрофілів, проте ці показники були вищими (відповідно на 8,26 та 37,2%), ніж у діабетичних тварин. Відсотковий вміст

Таблиця 3

**Лейкоцитарна формула периферичної крові щурів за умов експериментального цукрового діабету та введення препарату галегі лікарської (0,6г/кг) ( $M \pm m$ ,  $n=8...10$ )**

Умови експерименту	сегментноядерні нейтрофіли	паличкоядерні нейтрофіли	еозинофіли	базофіли	лімфоцити	моноцити
Контроль	14,25 $\pm$ 1,44	8,42 $\pm$ 1,18	1,5 $\pm$ 0,36	0,25 $\pm$ 0,13	70,42 $\pm$ 2,12	5,25 $\pm$ 0,51
Діабет	10,71 $\pm$ 1,60	7,14 $\pm$ 0,68	1,86 $\pm$ 0,14	0,14 $\pm$ 0,04	75,71 $\pm$ 1,78	4,43 $\pm$ 0,29
<i>Введення препарату галегі лікарської тваринам з ЕЦД</i>						
3 доба	11,89 $\pm$ 2,39	8,67 $\pm$ 1,66	1,22 $\pm$ 0,36	0,78 $\pm$ 0,40	74,11 $\pm$ 2,84	3,22 $\pm$ 1,13
6 доба	12,36 $\pm$ 1,65	9,09 $\pm$ 0,81	1,91 $\pm$ 0,22	0,36 $\pm$ 0,02	72,36 $\pm$ 2,92	3,91 $\pm$ 0,42
9 доба	14,11 $\pm$ 1,86	8,89 $\pm$ 0,86	0,89 $\pm$ 0,31	0,56 $\pm$ 0,04	71,78 $\pm$ 3,45	3,78 $\pm$ 0,43
12 доба	13,00 $\pm$ 2,30	9,63 $\pm$ 0,56	0,88 $\pm$ 0,35	0,50 $\pm$ 0,19	72,50 $\pm$ 2,31	3,50 $\pm$ 0,42
7 доба після припинення курсу введення	11,60 $\pm$ 0,68	9,80 $\pm$ 0,73	2,00 $\pm$ 0,71	0	72,60 $\pm$ 1,69	5,00 $\pm$ 0,32

**Лейкоцитарна формула периферичної крові шурів за умов введення препарату галеги лікарської здоровим тваринам (0,6 г/кг) (M±m, n=8...10)**

Умови експерименту	сегментноядерні нейтрофіли	паличкоядерні нейтрофіли	еозинофіли	базофіли	лімфоцити	моноцити
Контроль	14,25±1,44	8,42±1,18	1,5±0,36	0,25±0,13	70,42±2,12	5,25±0,51
<i>Введення препарату галеги лікарської здоровим тваринам</i>						
3 доба	13,00±1,51	9,00±1,03	1,67±0,42	0,5±0,34	71,67±1,76	4,17±0,31
6 доба	13,00±1,65	9,00±1,51	1,67±0,42	0	70,67±0,67	4,17±0,48
9 доба	14,29±1,02	9,57±1,36	1,29±0,52	0	70,86±0,94	4,00±0,44
12 доба	13,17±1,30	9,67±0,42	1,67±0,33	0	71,17±1,14	2,67±0,61
7 доба після припинення курсу введення	12,60±2,69	9,60±0,24	1,80±0,66	0	71,00±2,88	5,00±0,55

лімфоцитів після припинення введення препарату діабетичним тваринам залишався на рівні 12 дня введення (табл. 3).

Введення досліджуваного препарату здоровим тваринам не призводило до статистично значимих змін в процентному співвідношенні різних форм лейкоцитів (табл.4). Таким чином, досліджуваний препарат галеги лікарської виявляє нормалізуючу дію на показники лейкоцитарної формули за умов ЕЦД 1-го типу.

### ВИСНОВКИ

Дослідження біологічної дії препарату, отриманого з екстракту галеги лікарської, показали його нормалізуючий вплив на показники лейкоцитарної формули, що свідчить про його позитивний вплив на імунну систему, яка уражується за умов експериментального цукрового діабету. Водночас не виявлено суттєвих змін при використанні досліджуваного препарату на кількість еритроцитів, лейкоцитів та вміст загального гемоглобіну у здорових та діабетичних тварин, що вказує на відсутність негативних фізіологічних ефектів його дії.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Бродяк І., Сибірна Н. Морфофункціональні дослідження лейкоцитів периферичної крові за умов експериментального цукрового діабету у шурів // Вісник Львів. ун-ту. — 2006. — Вип. 42. — С. 117–127.
2. Бурда В., Біронт Н., Сибірна Н., Клевета Г. Дослідження функціонального стану еритроциту за умов експериментального стрептозотозинного діабету // Вісник Львів. ун-ту. — 2002. — Вип. 28. — С. 21–27.
3. Сибірна Н., Барська М., Гришук І. Морфофункціональна характеристика імункомпетентних клітин крові за умов цукрового діабету 1 типу // Вісник Львів. ун-ту. — 2004. — Вип. 35. — С. 77–83.
4. Сибірна Н.О., Бурда В.А., Чайка Я.П. Методи дослід-

ження системи крові. — Львів: Видавн. центр ЛНУ імені Івана Франка, 2006. — 100 с.

5. Топорова Е.К., Гулько Т.П., Сухорада Е.М., Рубан Т.А., Шпилева С.П., Иродов Д.М., Морзунов П.В., Кордюм В.А. Экспериментальная генная терапия сахарного диабета 1 типа // Журн. АМН України. — 2010. — Т. 16. — Додаток. — С. 170–171.
6. Шелудько В.М., Колесниченко Ю.І. Практичний посібник з фармакогнозії. — К.: Здоров'я, 1965. — 305 с.
7. Angothu S., Lakshmi S.M., Kumar A.S. A review on medicinal plants potential with antidiabetic activity // International Journal of Pharmacy and Therapeutics. — 2010. — Vol. 1, № 1. — P.15–22.
8. Asservatham J., Palanivelu S., Sachadanandam P. Cytoprotective effect of *Semecarpus anacardium* against toxicity induced by streptozotocin in rats // Journal of Experimental Pharmacology. — 2010. — № 2. — P. 135–143.
9. Brown A.S., Hong Y., Belder A., Beacon H., Beeso J., Sherwood R., Edmonds M., Martin J., Erusalimsky J. Megakaryocyte Ploidy and Platelet Changes in Human Diabetes and Atherosclerosis // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. — 1997. — Vol. 17. — P. 802–807.

**ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА, ПОЛУЧЕННОГО ИЗ ЭКСТРАКТА ГАЛЕГИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ (GALEGA OFFICINALIS L.) НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА**

М.Р. Хохла, Г.Я. Клевета, Я.П. Чайка,  
М.И. Скибицкая, Н.О. Сибирная

Статья содержит сведения о влиянии препарата, полученного из экстракта Галеги лекарственной на гематологические показатели периферической крови крыс в условиях экспериментального сахарного диабета. Установлено, что развитие экспериментального сахарного диабета сопровождается повышением количества тромбоцитов, содержания фетального гемоглобина и нарушением процентного соотношения различных форм лейкоцитов. Применение препарата галеги лекарственной вызывает уменьшение количества тромбоцитов и содержания фетального гемоглобина и нормализацию показателей лейкоцитарной формулы, что свидетельствует об активации защитных механизмов организма.

THE INFLUENCE OF PREPARATION,  
DERIVED FROM *GALEGA OFFICINALIS* L.  
EXTRACT, ON HEMATOLOGICAL INDICES  
OF RATS PERIPHERAL BLOOD UNDER  
THE EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

M.R. Khokhla, G.Ya. Kleveta, Ya.P. Chajka,  
M.I. Skybitska, N.O. Sybirna

The article contains data on the influence of preparation, derived from *Galega officinalis* L. extract, on hematological indices of rats peripheral blood under the circumstance of experimental diabetes mellitus. It was shown that the development of experimental diabetes is accompanied by increasing platelet count, fetal hemoglobin content and negative moves in differential blood count. Admission of *Galega officinalis* medicine leads to the decrease of platelet count and fetal hemoglobin content and the normalization of white blood cell differential count, indicating the activation of protective mechanisms of the body.

УДК 579.887.9:616.37-078

С.І. Похил, О.М. Тимченко,  
Л.В. Килипко, Є.І. Семеренська,  
С.В. Шагун, Л.С. Каптелов

РОЗРОБКА МЕТОДУ ГНІЗДОВОЇ  
ДВОРАУНДОВОЇ ПОЛІМЕРАЗНОЇ  
ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ ДЛЯ ДЕТЕКЦІЇ  
ЗБУДНИКІВ АНАПЛАЗМОЗНОЇ  
ТА ЕРЛІХІОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ

ДУ "Інститут мікробіології та імунології  
імені І.І. Мечникова АМН України", лабораторія  
нових та маловивчених інфекційних захворювань,  
ТОВ "БіоАналітичні технології", м. Харків, Україна

Анаплазмозна (AI), ерліхіозна інфекції (EI) — група трансмісивних (кліщових) інфекційних захворювань людей та ссавців, що викликаються облігатними внутрішньоклітинними патогенами — бактеріями родів *Anaplasma* і *Ehrlichia* (відповідно), характеризуються розвитком синдрому загальної інфекційної інтоксикації та специфічним ураженням білих клітин крові (гранулоцитів, моноцитів), макрофагів, еритроцитів, тромбоцитів, ендотелію судин та клітин органів кровотворення та лімфопоезу (селезінки, печінки, кісткового мозку, лімфовузлів) [1, 2, 6].

Так як анаплазми і ерліхії ще відносно мало вивчені, класифікація цих мікроорганізмів постійно змінюється. В цей час роди *Anaplasma* і *Ehrlichia* входять до родини *Anaplasmataceae*, порядку *Rickettsiales*, класу  $\alpha$  (Alpha) *Proteobacteria*, типу *Proteobacteria* [6]. Рід *Anaplasma* налічує три

види: *A. marginale*, *A. platys* та *A. phagocytophilum*, останній із яких є збудником гранулоцитарного анаплазмозу людини (ГАЛ) [1, 5, 6]. До роду *Ehrlichia* включено шість видів: *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. muris*, *E. ruminatum* та *E. risticii*, серед яких основну роль у захворюванні людей відіграють види *E. chaffeensis* (збудник моноцитарного ерліхіозу людини, МЕЛ, що домінує в США) і *E. muris* (збудник МЕЛ і рідше гранулоцитарного ерліхіозу людини, ГЕЛ, який домінує в країнах Європи) [3, 5, 6, 8, 14].

Робоча група по вивченню *Rickettsia*, *Coxiella*, *Anaplasma* (*Ehrlichia*) і *Bartonella* (EVWOG) Європейського товариства з клінічної мікробіології та інфекційних хвороб рекомендувала основні (безсумнівні) та допоміжні (ймовірні) критерії для найбільш широко застосовуваних методів лабораторної діагностики ГАЛ, МЕЛ і ГЕЛ: виявлення специфічних інтрацитоплазматичних мікроколоній (морул) збудника в клітинах-мішенях з допомогою світлової мікроскопії; виділення штамів збудника шляхом вирощування на спеціальних культурах еукаріотичних клітин; виявлення в зразках клінічного матеріалу антигену збудника та (або) визначення рівня антитіл проти збудника в сироватці крові з допомогою імунологічних (серологічних) методів; індикація специфічних фрагментів геному збудника з використанням полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) [2]. ПЛР метод лабораторної діагностики AI та EI має ряд переваг над іншими методами і знайшов широке практичне застосування, при цьому авторами [7, 10–12] запропоновано різні варіанти (формати) відтворення ПЛР: стандартний, з гарячим стартом, гніздовий, в реальному часі, мультіплексний, з реверсною транскрипцією та інші.

Мета даної роботи — розробити і випробувати новий варіант гніздової двораундової (ГД) ПЛР, застосування якої для дослідження біологічного матеріалу різного походження дозволяло б на першому етапі відтворення (раунді) реакції синхронізовано (одночасно) виявляти всіх представників родів *Anaplasma* і *Ehrlichia*, а в другому раунді ГД ПЛР — здійснювати детекцію клінічно найбільш значущих збудників AI (*A. phagocytophilum*) та EI (*E. chaffeensis*, *E. muris*).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

При відтворенні ГД ПЛР з метою детекції в зразках біологічного матеріалу різного походження групо- і видоспецифічних фрагментів геному