

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ

ФГАОУВПО «КАЗАНСКИЙ (Приволжский) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ
КАФЕДРА ЗООЛОГИИ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ГИСТОЛОГИИ

Специальность: 020203 – зоология
Специализация: зоология беспозвоночных


ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

СТУДЕНТА V КУРСА

ШКЕРДОВОЙ ТАТЬЯНЫ АНАТОЛЬЕВНЫ


**ЛАБОРАТОРНАЯ МЕТОДИКА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ
HIRUDO MEDICINALIS (ANNELIDA; HIRUDINEA)**

Работа завершена:

« 18 » апреля 2013 г.  (Т.А. Шкердова)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель
зав. отд. беспозвоночных зоомузея

« 18 » апреля 2013 г.  (А.В.Беспятых)

Заведующий кафедрой
кандидат биологических наук, доцент

« 18 » апреля 2013 г.  (Р. М. Сабилов)

Казань - 2013

СОДЕРЖАНИЕ

РЕФЕРАТ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1. Материал и методы	8
2. Краткая морфо-экологическая характеристика медицинской пиявки и ее использование в медицине. Обзор литературы	10
2.1. Видовое разнообразие пиявок и место <i>Hirudo medicinalis</i> в современной системе Annelida	10
2.2. Основные черты морфологии и биология <i>H. medicinalis</i>	12
2.3. Биологически активные вещества синтезируемые медицинской пиявкой	13
2.4. Терапевтические аспекты гирудотерапии.....	17
2.5. Размножение <i>H. medicinalis</i>	21
2.6. Современные методики культивирования медицинской пиявки и проблемы гирудологии.....	24
2.6.1. Обзор фирм - производителей медицинской пиявки, Работающих на территории России	24
2.6.2. Культивирование медицинской пиявки.....	28
2.6.3. Современные биотехнологии культивирования пиявки в России.....	32
2.6.4. Требования к медицинской пиявке (показатели качества).....	32
3. Лабораторная методика культивирования медицинской пиявки	34
3.1. Подращивание и содержание молодых пиявок	34
3.1.1. Выростные емкости, подготовка воды, параметры среды	34
3.1.2. Кормление пиявок	35
3.1.2.1. Заготовка и методы консервации крови	35
3.1.2.2. Методика кормления пиявок	39
3.1.3. Методы определения половозрелости производителей	42
3.2. Содержание производителей и получение потомства	42
3.2.1. Конструкция «маточника», подготовка воды, оптимальные параметры среды для спаривания и откладки коконов	42
3.2.2. Инкубирование коконов и получение молоди.	44

3.3. Содержание молодежи медицинской пиявки (нитчаток)	51
3.3.1. Выростные емкости, подготовка воды, параметры среды	51
3.3.2. Кормление молодежи медицинской пиявки	51
3.4. Показатели роста и интенсивности питания медицинской пиявки при культивировании в лабораторных условиях	53
4. Оценка экономической эффективности от реализации проекта «Минифабрика медицинских пиявок»	56
4.1. Исполнительное резюме.....	56
4.2. Продукт.....	56
4.3. Производственный план.....	57
4.4. Маркетинг- план.....	60
4.5. Финансовый план.....	60
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	65
ВЫВОДЫ	66
ЛИТЕРАТУРА	67
ПРИЛОЖЕНИЕ 1. Сертификат соответствия.....	71
ПРИЛОЖЕНИЕ 2. Патент Российской Федерации № 2070391 «Способ разведения медицинских пиявок в искусственных условиях».....	72
ПРИЛОЖЕНИЕ 3. ГОСТ № 31227-2004 Натрий лимоннокислый 3-х замещенный 5.5 водный пищевой (цитрат натрия)	76

РЕФЕРАТ

Ключевые слова: МЕДИЦИНСКАЯ ПИЯВКА, HIRUDO MEDICINALIS, ГИРУДОТЕРАПИЯ, НИТЧАТКИ, КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МЕДИЦИНСКОЙ ПИЯВКИ, РАЗМНОЖЕНИЕ ПИЯВОК, БИЗНЕС ПЛАН, ФАБРИКА МЕДИЦИНСКОЙ ПИЯВКИ, КОНСЕРВАЦИЯ КРОВИ.

Разработана оригинальная методика культивирования медицинской пиявки в условиях лаборатории. Разработаны основные методы искусственного кормления, содержания, определения половозрелости особей.

Разработаны рекомендации по способам консервации крови. Установлено что наиболее эффективным при консервации крови для длительного хранения является использование лимоннокислого натрия. Даны рекомендации по приемам искусственного кормления медицинской пиявки в условиях лабораторного культивирования. Определены оптимальные объемы крови для выкармливания пиявок разных возрастных групп.

Описана оригинальная конструкция аквариумов - маточников для спаривания пиявок и откладывания коконов. Определены оптимальные параметры среды для успешного размножения пиявок и условия для инкубирования коконов до выхода молоди.

Разработана и описана методика выкармливания ранней молоди медицинской пиявки.

Получены данные по интенсивности роста при регулярном кормлении пиявок и установлены сроки их полового созревания и начала размножения.

Произведена экономическая оценка реализации коммерческого проекта «Минифабрика пиявок» с представлением бизнес-плана.

Дипломная работа изложена на 83 страницах, содержит 3 таблицы, 30 рисунков, 3 приложения. Библиография 55 наименований.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы в России и в Европе наблюдается неуклонный рост внимания к гирудотерапии и фармакологическому использованию биологически активных веществ, продуцируемых медицинской пиявкой.

В России пиявки издавна пользуются непререкаемым авторитетом. В XIX веке земские врачи назначали их, чуть ли не от любой болезни. Советская власть к этим «лекарям» отнеслась тоже благосклонно и гирудотерапию развивала: в 1920-е годы в стране открылся Международный центр медицинской пиявки, который до сих пор считается крупнейшей в мире пиявочной фабрикой. Российский пиявочный рынок стабилен и практически бесконкурентен. Спрос стабильно опережает предложение, отпускная цена на продукцию обещает в ближайшие годы только расти.

Пиявки представляют большой интерес как сырье для получения лекарственных препаратов, пищевых биологических добавок (БАД) и косметических средств. Потенциальным источником ресурсов пиявок являются лов дикой пиявки и искусственное ее разведение на биофабриках или фермах. Искусственно выращенная пиявка отличается от дикой, то есть выловленной в естественных водоемах, физиологическими (меньшей агрессивностью, подвижностью), биохимическими (более высоким содержанием липидов, антиоксидантов и др. веществ), микробиологическими (бактериальная обсемененность) показателями. Указанные особенности пиявок могут определять качественные показатели производимых из них лекарственных препаратов. Искусственно выращенная пиявка может быть использована в промышленной переработке, в медицинских целях, а также для восполнения природной популяции путем замены выловленных особей. В связи с этим совершенствование технологии искусственного разведения пиявок представляет собой важную задачу.

В Российской Федерации природные ресурсы медицинской пиявки практически исчерпаны и в настоящее время для медицины и ветеринарии используют пиявок, выращенных на биофабриках. Особенности технологии разведе-

ния и содержания медицинских пиявок представляют коммерческую тайну и в открытых источниках обычно не публикуются. В Российской Федерации только одна из крупных компаний готова продать свою технологию. Пакет документации оценивается в 200 тысяч долларов.

На сегодняшний день на территории России официально функционируют 4 предприятия, которые занимаются разведением пиявок в медицинских целях и поставкой их на рынок.

Все производители оценивают спрос на пиявок как повышенный, по информации полученной из открытых источников, и порой вынуждены отказывать клиентам.

Одной из проблем производителей пиявок, является наличие нелегальных торговцев, которые ловят и продают диких пиявок под видом медицинских. Черный рынок довольно обширен. И по оценке Сергея Ермакова из «Гирудо-Мед»- «Татарстан и Поволжье, в основном работают на дикой пиявке». (http://bishelp.ru/svoe_delo/otrasl/med/30piyav.php)

На кафедру зоологии беспозвоночных и функциональной гистологии обращались заинтересованные предприниматели с предложением сотрудничества в организации мини биофабрики по культивированию медицинской пиявки.

Все это определило тематику нашего исследования, основной целью которого мы определили разработку собственной методики культивирования пиявок в лабораторных условиях.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- Подбор и анализ литературы по анатомии, биологии и особенностям репродуктивного поведения медицинской пиявки.
- Исследование современного состояния гирудотерапии, по литературным данным.
- Изучение существующих биотехнологий содержания и лабораторного разведения *H. medicinalis*,

- Изучение российского и зарубежного рынка по сбыту медицинской пиявки, формирование списка фирм-производителей *H. medicinalis* на территории РФ.
- Разработка и апробирование оптимальной методики культивирования медицинской пиявки в условиях экспериментальной гирудолaborатории кафедры.
- Разработка бизнес-плана малого предприятия по культивированию медицинской пиявки в условиях Республики Татарстан.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пиявок в лабораторных условиях целесообразно содержать в 3-х литровых банках. Смену воды необходимо производить каждые 72 часа. При этом водопроводную воду необходимо фильтровать с использованием 3-х ступенчатого осмотического фильтра (типа «Атолл»).

Получить свежую кровь, в Казани довольно трудно, так как все казанские заводы работают на готовом охлажденном сырье, завозимом из соседних регионов. Поставщиками крови могут стать частные предприятия, занимающиеся забоем скота.

Применение гепарина в качестве антикоагулянта при консервации крови для кормления пиявок не рекомендуется. Идеально подходит для заготовки крови для длительного хранения цитрат натрия.

В качестве главного параметра для оценки готовности пиявок к размножению необходимо выбирать вес, так как он наиболее точно отражает физиологическое состояние растущих пиявок. При весе более 3, 5 гр. пиявки становятся способными к размножению.

Аквариум, в котором половина заполнена водой, а другая заполнена кокосовым субстратом, воссоздает наиболее естественные условия.

Субстрат, в который пиявки откладывают коконы, должен быть умеренно влажный.

В случае невыхода молодичатки из коконов мы можем рекомендовать их вскрытие спустя 70 суток инкубирования.

Вылупившуюся молодь пиявок - «нитчатки» из емкости с водой, помещали в чистые 3-х литровые банки, заполненные на $\frac{1}{2}$ объема.

По достижении возраста 2,5 года, пиявки вероятно перестают наращивать соматическую массу и большая часть энергетических затрат расходуется на генеративный рост и продуцирование коконов.

Суммарные затраты на реализацию проекта «Минифабрика медицинской пиявки» при начальной загрузке 1 тыс. пиявок за 4 года составят 2 109 тыс. руб., а чистая прибыль 2 616 тыс.руб.

ВЫВОДЫ

1. Анализ существующего рынка медицинской пиявки в Российской Федерации позволяет прогнозировать позитивные перспективы для Татарстана, как рынка реализации продукции гирудофабрики.

2. Разработанная оригинальная методика культивирования медицинской пиявки пригодна для разведения и выращивания *H. medicinalis* в лабораторных условиях и может быть рекомендована в качестве базовой для малых предприятий.

3. Сформированный бизнес-план малого предприятия по культивированию медицинской пиявки позволяет оценить стоимость реализации проекта в 2 109 тыс. руб. при выходе предприятия на уровень самоокупаемости на 4 год. При этом суммарный доход предприятия составит 4 725 000 рублей а чистая прибыль 2 616 тыс.руб.