

УДК: 10.18522/2308-9709-2021-37-2
<https://new.jbks.ru/archive/issue-37/article-2>

Щадящий метод взятия проб крови у черепах (Testudines) с целью выявления кровепаразитов

[Новрузов Н. Э.¹](#), [Гурбанова Т. Ф.²](#)

1. Институт зоологии НАН Азербайджана
2. Институт зоологии НАН Азербайджана

Предложен альтернативный метод получения качественных проб крови у черепах рода *Testudo* на предмет выявления у них кровепаразитов путём кровоизвлечения посредством медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis*). Данный метод кровоизвлечения также результативен, как и традиционные способы взятия крови у черепах, но в отличие от них прост в исполнении, более гуманен и безопасен для этих животных.

Введение. Разработка методов взятия крови у рептилий и у черепах, в частности на выявление кровепаразитов, имеет большое научное и прикладное значение [1, 6]. Но в большинстве случаев безопасное и без причинения страданий животному получение крови является большой проблемой. Особенно остро стоит вопрос кровоизвлечения у редких и исчезающих представителей герпетофауны, каковыми являются черепахи рода *Testudo* [3].

Кровь у большинства видов сухопутных и водных черепах можно извлекать из яремной, плечевых, бедренных, вентральной и дорсальной копчиковых вен, затылочного венозного синуса и из сердца [2]. Выбор адекватного метода в каждом случае часто зависит от вида черепахи (её размерных характеристик, биологических особенностей и т.п.). Объем извлекаемой крови варьирует в зависимости от количества планируемых клинических и лабораторных исследований, но максимальный объем однократного взятия крови составляет 0,6 % от массы тела (6 мл на кг) [2].

Одним из традиционных методов кровоизвлечения у рептилий является кардиопункция. При всех своих преимуществах этот метод, позволяющий получать адекватные образцы крови, опасен, требует высокой точности выполнения и, при малейшем отклонении от него в техническом плане может вызвать либо контаминацию образцов крови жидкостями грудной и плевральной полостей, либо гибель самого животного. В некоторых случаях данная процедура может привести даже к тампонаде сердца [1].

Широко распространён также метод взятия крови путём отсечения когтей или отсечения или разреза кончика хвоста. Ампутацией хвоста можно получить необходимое для большинства исследований количество крови, однако результаты при этом бывают не всегда надёжными. Так, например, исказить получаемые результаты при данной процедуре может активация свёртывающей системы крови. Кроме того, происходит контаминация образцов крови тканевыми жидкостями и дебрисом [5].

Более адекватен метод пункции хвостовой вены, расположенной на вентральной стороне копчикового позвонка. Однако этот метод достаточно трудоёмок и сложен для выполнения и не всегда позволяет получить достаточное для исследований количество крови.

Все перечисленные методы кровоизвлечения нельзя считать вполне гуманными и этичными [4], они часто сложны для выполнения, а также не всегда пригодны для проведения исследований на большом количестве материала [3]. Поэтому все ещё существует необходимость поиска альтернативных, более гуманных и технически простых, методов отбора проб крови у рептилий.

Целью нашего исследования было установление возможности получения качественных проб крови у черепах (с целью выявления кровепаразитов) посредством медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis* Linnaeus, 1758), как наиболее простого и в тоже время гуманного и безопасного для этих животных способа.

Материал и методы исследования

Материалом для исследования на выявление кровепаразитов послужили две группы средиземноморских черепах (*Testudo graeca*), доставленных в лабораторию Протозоологии Института зоологии НАН Азербайджана:

1) особи, отловленные из разных естественных экосистем;

2) особи, сбитые автотранспортом на скоростных автомагистралях, имеющие значительные повреждения не совместимые с жизнью.

У особей черепах первой группы кровозвличение проводилось методом постановки медицинских пиявок на относительно тонкий участок кожи в области основания задних конечностей и хвоста. Пиявки приобретались через аптечную сеть. Кожа черепах в месте предполагаемой постановки пиявок перед процедурой тщательно обрабатывалась обыкновенной водой. На каждую особь ставились по одной или по две пиявки в зависимости от массы тела черепахи. Время, затрачиваемое пиявками на кровозвличение, составляло от 20 минут до 1 часа (в среднем 35 минут). После отпадания насосавшихся пиявок, они тотчас помещались в стерильные чашки Петри где на них контактно воздействовали ватным тампоном смоченным этиловым спиртом для того чтобы вызвать срыгивание извлечённой крови. Объем крови извлеченной из одной пиявки не превышал 1,5 мл.

У особей черепах второй группы (доставленных с серьёзными травмами) кровозвличение проводилось стандартным методом кардиопункции [2].

Из полученных вышеуказанными методами проб крови приготавливались тонкие мазки на предметные стекла, часть крови также собирали в пробирки эпиндроф с добавлением 96 % этанола для проведения дальнейших молекулярных исследований. Приготовленные мазки высушивались, фиксировались в абсолютном метаноле в течение 5 минут и окрашивались по Романовскому-Гимзе [7]. Готовые мазки исследовали под светооптическим микроскопом Leica DM 1000 с объективом 100x с иммерсионным маслом и фотографировали цифровой камерой Leica DFC 425.

Результаты

При сравнительном исследовании микроскопических препаратов приготовленных из проб крови средиземноморской черепахи, полученных двумя методами – кардиопункцией и кровозвличения с помощью медицинских пиявок – не было обнаружено никаких качественных различий. Во всех препаратах форменные элементы крови и внутриэритроцитные стадии кровепаразитов были одинаково пригодны для идентификации (рис.).

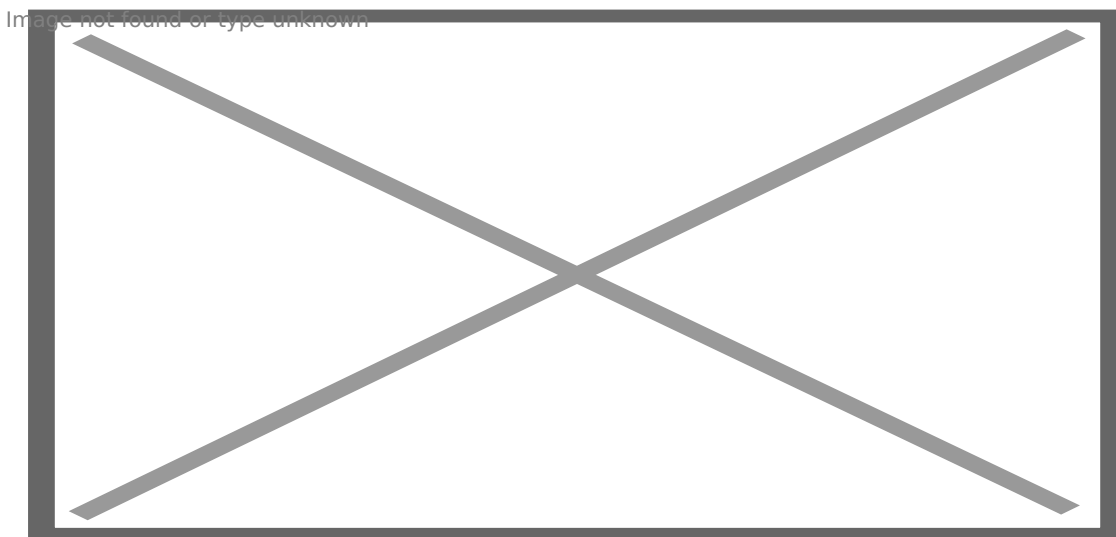


Рис. Кровепаразиты рода *Hemolivia* в эритроцитах средиземноморской черепахи. На фото: слева – препарат, приготовленный из проб крови, взятой методом кардиопункции, справа – препарат, приготовленный из проб крови, извлечённой с помощью медицинских пиявок

Заключение

Сравнительное исследование двух методов кровозвличения для получения качественных проб крови у средиземноморской черепахи (*Testudo graeca*) на предмет выявления кровепаразитов показало, что метод

кровоизвлечения посредством медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis*) также результативен, как и традиционный способ взятия крови у черепах, но в отличие от него прост в исполнении, более гуманен и безопасен для этих животных.

Список литературы

1. Васильев Д.Б. Ветеринарная герпетология. М.: Проект-Ф. 2005. – 480 с.
2. Грачева О.А., Пахомов Г.А., Елдашев А.В. Методы взятия крови у разных видов животных, птиц и рыб. Казань. 2008. – 33 с.
3. Лисничая Е.Н., Ефимов В.Г. Особенности исследования морфологического состава крови рептилий // Научно-технический бюллетень НЦД. Т.2, № 1. 2014. – С. 61-74.
4. Международные рекомендации (этический кодекс) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных. Основные принципы (Разработан и опубликован в 1985 году Советом международных научных организаций) [urist-edu.ru>biolog/15242>index.html](http://urist-edu.ru/biolog/15242/index.html)
5. Соколова Ф.М., Павлов А.В., Юсупов Р.Х. Гематология пресмыкающихся. Методическое пособие к курсу герпетология, большому практикуму и спецсеминарам. Казань. 1997. – 31 с.
6. Хайрутдинов И.З., Соколова Ф.М. Характеристика крови рептилий и её связь с условиями среды обитания. Казань: Казанский университет. 2010. – 44 с.
7. Houwen B.B. Blood film preparation and staining procedures Clinics in Laboratory // Medicine, Vol. 22, Issue 1, 2002. P. 1-14

Spisok literatury

1. Vasilyev, D.B. Veterinarnaya gerpetologiya. M.: Proekt-F. 2005. – 480 s.
2. Gracheva, O.A., Pahomov, G.A., Eldashev, A.V. Metody vzyatiya krovi u raznyh vidov zhiivotnyh, ptic i ryb. Kazan. 2008. – 33 s.
3. Lisnichaya, E.N., Efimov, V.G. Osobennosti issledovaniya morfologicheskogo sostava krovi reptilij // Naukovo-tekhnicheskij byulleten NCD. T.2, № 1. 2014. – S. 61-74.
4. International recommendations (the code of ethics) for conducting biomedical research using animals. Basic principles (Developed and published in 1985 by the Council of International Scientific Organizations) [urist-edu.ru> biolog / 15242> index.html](http://urist-edu.ru/biolog/15242/index.html)
5. Sokolina, F.M., Pavlov, A.V., Yusupov, R.H. Gematologiya presmykayushchihsya. Metodicheskoe posobie k kursu gerpetologiya, bolshomu praktikumu i spec seminaram. Kazan. 1997. – 31 s.
6. Hajrutdinov, I.Z., Sokolina, F.M. Harakteristika krovi reptilij i eyo svyaz' s usloviyami sredy obitaniya. Kazan: Kazanskij universitet. 2010. – 44 s.
7. Houwen B.B. Blood film preparation and staining procedures Clinics in Laboratory // Medicine, Vol. 22, Issue 1, 2002. P. 1-14