УДК 613.2 + 615.874.2

Б.К. Жумабекова[1], К.А. Жумабекова[2]

[1]Павлодарский государственный педагогический институт;
[2]ТОО «Line Brew Bottlers», Алматы;
(E-mail: zhumabekovabk@ppi.kz)

Влияние чайного гриба на микробиоценоз толстого кишечника

Целью данного исследования явилось изучение влияния настоя чайного гриба на микробиоценоз толстого кишечника подопытных животных. Обоснованием этих экспериментов, подчеркнуто авторами, послужило наличие у полученного напитка антибиотической активности.

Ключевые слова: чайный гриб, чайный квас, биотехнология, микробиоценоз, дисбактериоз, комбуча, уксусно-кислые бактерии, дрожжевые грибы, бифидобактерии, лактобактерии.

Введение

Нормальная микрофлора кишечника, являясь симбионтом человека, имеет огромное значение для жизнедеятельности макроорганизма и обеспечения его гомеостаза.

Прежде всего, важная роль аутофлоры заключается в формировании неспецифической защиты организма от различных патогенных бактерий. Формирование колонизационной резистентности осуществляется как за счет прямого подавления роста и развития болезнетворных микроорганизмов какими-либо агентами, так и в результате их многофакторного воздействия на иммунную систему макроорганизма [1–3].

Известно, что немаловажным фактором, определяющим пригодность продукта для профилактики и терапии дисбиотических состояний, является их способность элиминировать условно-патогенные микроорганизмы в содержимом толстого кишечника [4]. В связи с этим целью данного исследования явилось изучение влияния напитка — кваса «Алтын Батыр», полученного на основе чайного гриба, на микробиоценоз толстого кишечника подопытных животных. Обоснованием этих экспериментов послужило наличие у напитка антибиотической активности.

Материалы и методы исследования

В соответствии с поставленными задачами экспериментальные исследования были проведены в Казахской академии питания и на базе научного центра в Павлодарском государственном педагогическом институте.

Объектами исследования служили: природная популяция смешанной культуры «чайный гриб — комбуча», распространенной и используемой населением южных регионов Казахстана; отселекционированная на ее основе ассоциация дрожжевых культур и уксуснокислых бактерий и полученный с ее использованием напиток — чайный квас «Алтын Батыр».

Для выделения чистых культур микроорганизмов из выделенных природных популяций выращивание проводили в стационарных условиях в ферментерах, с рабочим объемом 700 мл, на жидкой водной среде, содержащей 6 % сахара и 0,1 % экстракта чайного листа, при температуре 28 ^{0}С. После 3-х суток культивирования при достижении pH культуральной жидкости значения 3,5 отобранные из ферментера пробы высевали на селективные среды: сусло–агар, мясопептонный агар, агаризованный гидролизат молока. Были выделены и идентифицированы следующие микроорганизмы: *Hanseniaspora apiculata, Saccharomycessp., Torulopsissp., Acetobacter xylinum, Acetobacteriumaceti* [5–7], которые в дальнейшем выращивали в условиях периодического и полунепрерывного культивирования (путем ежедневного слива ½ части культуральной жидкости и прилива такого же количества среды) [8, 9]. Культивирование микроорганизмов проводили на жидкой среде с различным содержанием сахара (от 4 до 10 %) и 0,1 % экстракта чайного листа при разных параметрах роста.

Эксперименты по изучению возможности коррекции дисбактериоза кишечника с помощью напитка «чайный гриб» проводили на 30 белых мышах массой 16–20 г. [10]. Медикаментозный дисбактериоз у них вызывался путем ежедневного введения перорально через зонд 0,1 %-ного раствора тетрациклина, из расчета по 5 мг антибиотика на 1 кг массы тела. Использовался напиток 3-х и 7-дневной выработки. По истечении 5-дневного срока животные разделялись на три группы по десять мышей в каждой: первая опытная группа получала по 0,5 мл 7-дневного напитка; вторая — такое же количество 3-дневного напитка и контрольной группе вводили по 0,5 мл физиологического раствора. Напитки и физиологический раствор вводились ежедневно в течение 14 дней перорально, через зонд. Фекалии для исследования микрофлоры толстого кишечника отбирались сразу же после отмены антибиотика и на 3, 7 и 14 сутки после начала введения напитка.

Исследования микрофлоры кишечника мышей производили по следующим группам микроорганизмов: колиформные микроорганизмы, стафилококки, энтерококки, плесневые и дрожжеподобные грибы, бифидобактерии, лактобактерии.

Полученные данные подвергались математической обработке по общепринятым методам вариационной статистики на персональном компьютере при помощи программы «Excel» [11, 12].

Результаты и обсуждение

Результаты бактериологических анализов показали положительную динамику состояния микробиоценоза кишечника при приеме напитка и отражены в таблице 1 и на рисунках 1–3.

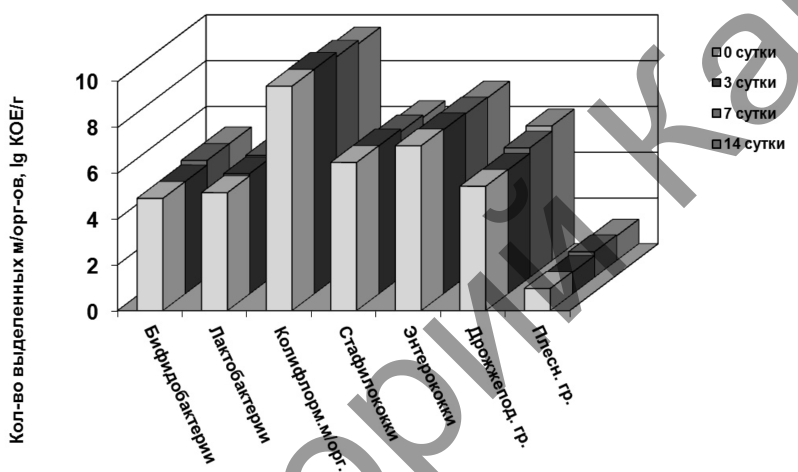

Рисунок 1. Динамика изменения микрофлоры кишечника мышей с медикаментозным дисбактериозом в контрольной группе, получавшей физиологический раствор

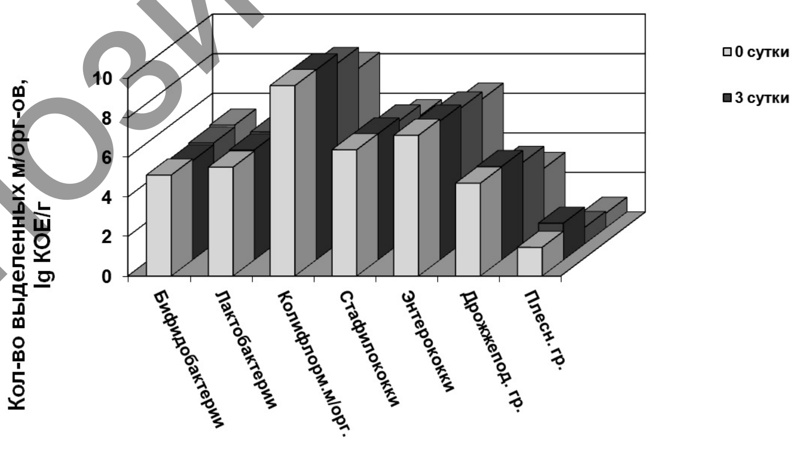

Рисунок 2. Динамика изменения микрофлоры кишечника мышей с медикаментозным дисбактериозом при применении напитка «Чайный квас» разных сроков выработки в группе, получавшей 3-дневный напиток

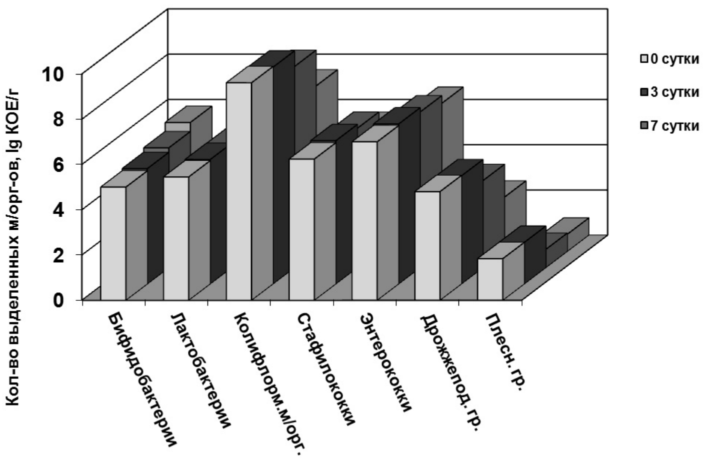

Рисунок 3. Динамика изменения микрофлоры кишечника мышей с медикаментозным дисбактериозом при применении напитка «Чайный квас» разных сроков выработки в группе, получавшей 7-дневный напиток

Как видно из приведенных данных, уже на 7 сутки после отмены антибиотика в опытных группах снижалась обсемененность фекалий колиформными бактериями. При этом более заметный эффект был отмечен в группе животных, получавших 7-суточный продукт. Так, если на 3 сутки наблюдения колиформы высевались в обеих опытных группах примерно в одинаковых количествах (lg(9,58±0,10) КОЕ/г — в первой опытной группе и lg(9,60±0,13) КОЕ/г — во второй), то уже на 7 сутки эти показатели достоверно отличались ($P<0,05$) и составляли соответственно lg(8,89±0,06) КОЕ/г и lg(9,12±0,07) КОЕ/г. К концу эксперимента содержание колиформных микроорганизмов статистически достоверно уменьшалось в группе, принимавшей 7-дневный напиток, до lg(7,31±0,08) КОЕ/г и у животных, получавших 3-дневный напиток — до lg(8,06±0,08) КОЕ/г. В контрольной группе изменение количества этих микроорганизмов было незначительным — от lg(9,81±0,12) КОЕ/г до lg(9,46±0,31) КОЕ/г. На 14 сутки содержание колиформных бактерий достоверно отличалось в опытных группах по сравнению с контролем ($P<0,05$).

Обсемененность фекалий подопытных животных стафилококками достоверно снижалась: с lg(6,33±0,18) КОЕ/г на 3 сутки до lg(5,43±0,16) КОЕ/г на 14 сутки — в первой опытной группе и с lg(6,37±0,13) КОЕ/г на 3 сутки до lg(5,67±0,13) КОЕ/г на 14 сутки — во второй опытной группе. Аналогичная динамика отмечалась в отношении энтерококков: с lg(7,07±0,13) КОЕ/г (3 сутки) до lg(6,54±0,21) КОЕ/г (14 сутки) — в первой группе и с lg(7,01±0,20) КОЕ/г (3 сутки) до lg(6,51±0,10) КОЕ/г (14 сутки) — во второй группе, однако снижение количества энтерококков в первой группе не было статистически достоверным ($P<0,05$). У контрольных мышей наблюдались незначительные изменения в количественном содержании кокковой флоры: стафилококков — с lg(6,46±0,19) КОЕ/г до lg(6,24±0,18) КОЕ/г, а энтерококков — с lg(7,16±0,12) КОЕ/г до lg(7,10±0,14) КОЕ/г. Достоверные различия в количестве кокковых микроорганизмов между контрольной и опытными группами были выявлены лишь на 14 сутки.

Хорошие результаты были получены по элиминированию дрожжеподобных грибов при помощи 7-дневного напитка. Из таблицы видно, что содержание дрожжей достоверно снижается: с lg(4,78±0,30) КОЕ/г на 3 сутки приёма напитка до lg(2,40 ±0,47) КОЕ/г на 14 сутки — в первой группе и с lg(4,72±0,42) КОЕ/г до lg(3,01±0,41) КОЕ/г — во второй группе. У контрольных мышей количество дрожжеподобных микроорганизмов несколько увеличивалось: с lg(5,41±0,55) КОЕ/г на 3 сутки до lg(5,88±0,58) КОЕ/г на 14 сутки. На 7 и 14 сутки эксперимента опытные группы достоверно отличались от контрольной группы по содержанию дрожжей в фекалиях подопытных животных.

Т а б л и ц а 1

Динамика изменения микрофлоры кишечника мышей с медикаментозным дисбактериозом при применении чайного кваса «Алтын Батыр» разных сроков выработки (α≤0,05)

Обследованная группа животных	Время обследования - сутки после отмены антибиотика	Кол-во живот-ных в группе	Количество выделенных микроорганизмов (lg КОЕ/г)						
			Бифидо-бактерии	Лакто-бактерии	Коли-формные МО	Стафило-кокки	Энтеро-кокки	Дрожже-подобные грибы	Плесневые грибы
Группа, получавшая 7-дневный напиток	0	10	5,0±0,32	5,45±0,01	9,61±0,05	6,24±0,06	7,0±0,10	4,80±0,29	1,84±0,38
	3		5,10±0,40	5,50±0,13	9,58±0,10	6,33±0,18	7,07±0,13	4,78±0,30	1,84±0,43
	7		5,30±0,32	5,4 9±0,16	8,89±0,06	6,16±0,18	6,88±0,12	3,85±0,37	0,81±0,31
	14		5,70±0,33	5,58±0,14	7,31±0,08	5,43±0,16	6,54±0,21	2,40±0,47	0,76±0,27
Группа, получавшая 3-дневный напиток	0	10	5,10+0,28	5,50+0,13	9,62+0,03	6,38+0,15	7,11+0,18	4,69+0,36	1,45+0,31
	3		5,01±0,28	5,56±0,12	9,60±0,13	6,37±0,13	7,01±0,20	4,72±0,42	1,86±0,43
	7		5,10±0,42	5,66±0,13	9,12±0,07	6,21±0,14	6,87±0,13	4,12±0,38	0,83±0,34
	14		5,20±0,31	5,70±0,10	8,06±0,08	5,67±0,13	6,51±0,10	3,01±0,41	0,74±0,26
Контрольная группа, получав-шая физиологи-ческий раствор	0	10	4,90+0,34	5,15+0,16	9,80+0,08	6,47+0,13	7,20+0,13	5,43+0,03	0,97+0,51
	3		4,90±0,34	5,25±0,10	9,81±0,12	6,46±0,19	7,16±0,12	5,41±0,55	0,94±0,38
	7		5,10±0,28	5,32±0,07	9,61±0,31	6,35±0,18	7,13±0,13	5,65±0,53	1,11±0,43
	14		5,10±0,28	5,44±0,08	9,46±0,31	6,24±0,18	7,10±0,14	5,88±0,52	1,07±0,42

В результате наших исследований было показано, что оба вида напитка способствуют незначительному снижению обсемененности содержимого толстого кишечника плесневыми грибами: от lg(1,84±0,43 КОЕ/г (3 сутки) до lg(0,76±0,27) КОЕ/г (14 сутки) — в первой группе и от lg(1,86±0,43) КОЕ/г (3 сутки) до lg(0,74±0,26) КОЕ/г (14 сутки) — во второй опытной группе. Изменение содержания плесеней в обеих группах не было статистически значимым (P<0,05). У контрольных мышей количество микроскопических грибов практически не колебалось: (lg(0,97±0,38) КОЕ/г — 3 сутки; lg(1,07±0,42) КОЕ/г — 14 сутки. Различия между опытными и контрольной группами не были достоверными.

В течение наблюдаемого срока у всех экспериментальных мышей практически не отмечено повышения количества бифидобактерий. Так, если уровень микроорганизмов семейства *Bifidobacteriaceae* на 3 сутки был примерно одинаковым в обеих опытных группах: (lg(5,10±0,40) КОЕ/г — первая группа и lg(5,01±0,28) КОЕ/г — вторая группа, то к концу эксперимента их количество лишь незначительно возросло у животных, получавших 7-дневный напиток (lg(5,70±0,33) КОЕ/г), и это различие не было статистически достоверным. Содержание лактобактерий также практически не менялось ни в опытных, ни в контрольном вариантах.

Результаты исследования частоты выявления условно-патогенных и патогенных микроорганизмов различных семейств из фекалий экспериментальных мышей на 3 и 14 сутки приема исследуемых напитков приведены на рисунке 4 и в таблице 2.

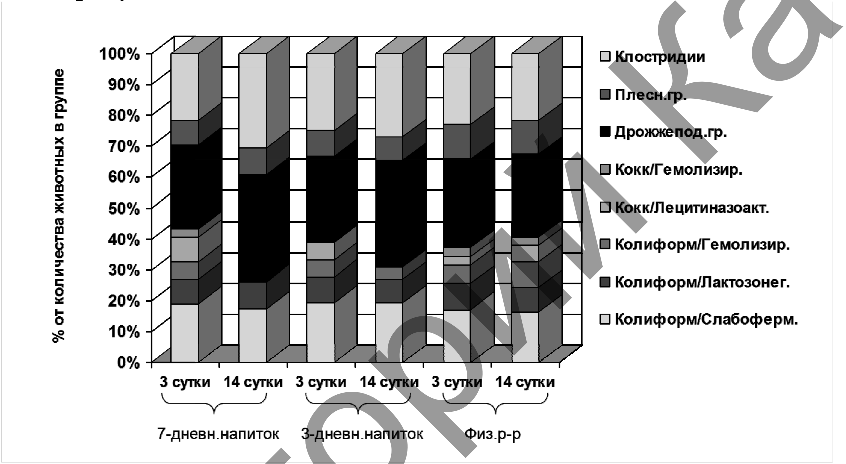

Рисунок 4. Частота выявления условно-патогенных микроорганизмов из кишечника мышей с медикаментозным дисбактериозом при применении напитка «Чайный квас» разных сроков выработки

Как видно из представленных данных, у животных опытных групп по сравнению с контролем к концу наблюдаемого срока снижается процент высеваемости лактозонегативных (с 30 % до 20 % — и в первой и во второй группах) и слабоферментирующих колиформных бактерий (с 70 % до 40 % — в первой и с 70 % до 50 % — во второй опытных группах). У контрольных животных процент слабоферментирующих и лактозонегативных колиформных бактерий не изменялся (60 % и 30 % соответственно). Кроме того, в первой группе к концу курса терапии не были выявлены гемолитические колиформные бактерии, в то время как процент выделения этих микроорганизмов во второй группе колебался от 20 % (3 сутки) до 10 % (14 сутки) и у контрольных мышей — от 20 % (3 сутки) до 30 % (14 сутки). Полученные результаты свидетельствуют о несомненном антагонистическом воздействии исследуемых напитков на условно-патогенные бактерии семейства *Enterobacteriaceae*. При этом необходимо отметить, что 7-дневный напиток способствует элиминации слабоферментирующих и гемолитических бактерий из организма подопытных животных в более короткие сроки.

Положительным является и тот факт, что у мышей, получавших напиток, на 14 сутки наблюдения полностью отсутствовали лецитиназоактивные и гемолитические штаммы кокковых микроорганизмов, в то время как в контрольной группе эти культуры были выделены у 20 % и 10 % животных соответственно.

Таблица 2

Частота выявления условно-патогенных микроорганизмов из кишечника мышей с медикаментозным дисбактериозом при применении чайного напитка «Алтын Батыр» разных сроков выработки, в % от количества животных в группе

Обследуемые группы животных	Количество животных в группе	Время обследования, сутки после отмены антибиотика	Группы микроорганизмов						
			Колиформные бактерии			Кокковые микроорганизмы		Дрожжеподобные грибы	Плесневые грибы
			слабоферментирующие	лактозонегативные	гемолизирующие	лецитиназоактивные	гемолизирующие		
Группа, получавшая 7-дневный напиток	10	3 сутки	70	30	20	30	10	100	30
		14 сутки	40	20	-	-	-	80	20
Группа, получавшая 3-дневный напиток	10	3 сутки	70	30	20	20	-	100	30
		14 сутки	50	20	10	-	-	90	20
Контрольная группа, получавшая физиологический раствор	10	3 сутки	60	30	20	10	10	100	40
		14 сутки	60	30	30	20	10	100	40

Наши исследования подтвердили и тот факт, что чайный напиток «Алтын Батыр» способствует выведению из организма плесневых и дрожжеподобных грибов. В проведенном эксперименте в контрольной группе дрожжеподобные грибы находили у 100 % животных, а плесневые — у 40 % на протяжении всего срока наблюдения. В группе, получавшей 7-дневный напиток, процент высевания дрожжеподобных микроорганизмов снижался с 100 % до 80 %, а в группе, получаемой 3-дневный напиток, — со 100 % до 90 %. Процент животных, контаминированных плесневыми грибами, уменьшался и в том и в другом случае — с 30 % на 3 сутки до 20 % на 14 сутки.

Заключение

В результате проведенных экспериментов было выявлено, что при приеме чайного напитка «Алтын Батыр» наблюдалась положительная тенденция в состоянии микробиоценоза кишечника мышей, у которых был вызван медикаментозный дисбактериоз, причем более выраженный эффект отмечался при применении 7-дневного напитка. Наши исследования подтвердили, что чайный напиток «Алтын Батыр» способствует выведению из организма плесневых и дрожжеподобных грибов. В проведенном эксперименте в контрольной группе дрожжеподобные грибы находили у 100 % животных, а плесневые — у 40 % на протяжении всего срока наблюдения. В группе, получавшей 7-дневный напиток, процент высевания дрожжеподобных микроорганизмов снижался с 100 % до 80 %, а в группе, получавшей 3-дневный напиток, со 100 % до 90 %. Процент животных, контаминированных плесневыми грибами, уменьшался и в том и в другом случае — с 30 % на 3 сутки до 20 % на 14 сутки.

Полученные результаты позволяют рекомендовать чайный напиток «Алтын Батыр» к использованию в качестве лечебно-профилактического средства при дисбактериозах.

Список литературы

1 *Finegold S.M.* Anaerobic bacteria in Human Diseases. — San Diego: Academic Press, 1977. — P. 24–30.

2 *Заболодская Т.Г.* Изучение аутофлоры кишечника как показатель резистентности при редуцированном питании // Иммунологические исследования в клинике и эксперименте: сб. науч. тр. — Л., 1984. — С. 89–94.

3 *Рокутова А.В.* Изучение особенностей дисбактериоза кишечника человека, методов его экспресс-диагностики и коррекции с помощью эубиотика: автореф. дис. … канд. биол. наук. — Алматы, 2000. — 24 с.

4 *Бойцова А.Г., Лифляндский А.А.* Лечение дисбактериоза. Продукты, лекарства и биологически активные добавки. — СПб.: НЕВА, 2005. — С. 378.

5 Определитель бактерий Берджи / Под ред. Дж.Хоулта, Н.Крига и др. — М.: Мир, 1997. — Т. 1. — 429 с.

6 *Кудрявцев В.И.* Систематика дрожжей. — М.: Изд-во АН СССР, 1954. — 426 с.

7 *Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М.* Определитель патогенных и условно-патогенных грибов. — М.: Мир, 2001. — 468 с.

8 *Печуркин Н.С.* Популяционная микробиология. — Новосибирск: Наука, 1978. — 275 с.

9 *Фуряева А.В.* Исследование конкурентных отношений в хемостате, турбидостате и полунепрерывной культуре // Смешанные проточные культуры микроорганизмов. — Новосибирск: Наука, 1981. — 200 с.

10 *Каламкарова Л.И., Машкеев А.К., Идрисова Р.С., Багрянцева О.В.* Методические указания по диагностике и терапии дисбактериоза кишечника. — Алматы: Полиграфсервис, 1999. — 33 с.

11 *Кокунин В.А.* Статистическая обработка данных при малом числе опытов // Украинский биохимический журнал. — 1975. — № 43, 6. — С. 775–791.

12 *Лакин Г.Ф.* Биометрия. — М.: Высш. шк., 1973. — 343 с.

Б.К. Жумабекова, К.А. Жумабекова

Тоқ ішек микробиоценозына шәй ашытқысының әсері

Мақала мақсаты — зерттеуге алынған жануарлардың тоқ ішегі микробиоценозына шәй ашытқысы әсерін бақылау. Алынған сусынның ауруға қарсы белсенділігі осы зерттеулерге негіздеме болып табылады.

B.K. Zhumabekova, K.A. Zhumabekova

Effect of Kombuchaon microbiocenosis of colon

The aim of this study was to investigate the effect of Kombucha on microbiocenosis of colon of experimental animals. The background of these experiments was the antibiotic activity produced by the Kombucha beverage.

References

1 Finegold S.M. *Anaerobic bacteria in Human Diseases*, San Diego: Academic Press, 1977, p. 24–30.

2 Zabolodskaya T.G. *Immunological studies in the clinic and experiment*: Coll. scientific. works, 1984, p. 89–94.

3 Rokutova A.V. *The study of intestinal dysbiosis man, his methods of rapid diagnosis and cor-torate using eubiotics*: abstract diss. ... cand. biol. Sciences, Almaty, 2000, 24 p.

4 Boytsova A.G., Liflyandskiy A.A. *Treatment of dysbiosis. Food, medicines and dietary supplements*, Saint Petersburg: NEVA, 2005, 378 p.

5 *Determinant bacteria of Burgi,* Ed. Dzh. Houlta, N. Kriga etc, Moscow: Mir, 1997, 1, 429 p.

6 Kudryavtsev V.I. *Taxonomy of yeasts,* Moscow: Publ. USSR Academy of Sciences, 1954, 426 p.

7 Sutton D., Fothergill A., Rinaldi M. *Determinant of pathogenic and opportunistic fungi*, Moscow: Mir, 2001, 468 p.

8 Pechurkin N.S. *Population microbiology*, Novosibirsk: Nauka, 1978, 275 p.

9 Furyaeva A.V. *A study of competition in the chemostat, turbidostate and semi-continuous culture*: In .: Mixed flow microbial culture, Novosibirsk: Nauka, 1981, 200 p.

10 Kalamkarova L.I., Mashkeev A.K., Idrisova R.S., Bagryantseva O.V. *Guidelines for the diagnosis and treatment of intestinal dysbiosis*, Almaty: Poligrafservis, 1999, 33 p.

11 Kokunin V.A. *Ukrainian Biochemical Journal*, 1975,43, 6, p. 775–791.

12 Lakin G.F. *Biometrics*, Moscow: Vysshaya shcola, 1973, 343 p.