© Коллектив авторов, 2017
УДК 616-093/-095+611.34+615.012.6
DOI – <http://doi.org/10.14300/mnnc.2017.12024>
ISSN – 2073-8137

МИКРОБИОЦЕНОЗ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА КРЫС ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ПРИМЕНЕНИИ ЗООГЛЕИ *MEDUSOMYCES GYSEVII* (ЧАЙНЫЙ ГРИБ)

Н. И. Бондарева¹, Л. Д. Тимченко¹, Е. В. Алиева², Ю. М. Добрыня¹,
Н. И. Гандрабуrowa¹, С. И. Писков¹, Л. И. Калмыкова²

¹ Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия

² Ставропольский государственный медицинский университет, Россия

MICROBIOCENOSIS OF THE LARGE INTESTINE OF RATS AFTER ORAL APPLICATION OF ZOOGLOEAS *MEDUSOMYCES GYSEVII* (KOMBUCHA)

Bondareva N. I.¹, Timchenko L. D.¹, Alieva E. V.², Dobrynja Yu. M.¹,
Gandraburova N. I.¹, Piskov S. I.¹, Kalmykova L. I.²

¹ North-Caucasian Federal University, Stavropol, Russia

² Stavropol State Medical University, Russia

В настоящее время актуальной является проблема дисбиозов, для коррекции которых предпочтительно применение пребиотиков. В качестве потенциального сырьевого объекта для получения пребиотика, за счет широкого спектра биохимических составляющих микробного происхождения, рассмотрена зооглея симбионта *Medusomyces gysevii* (чайный гриб). Проводилось изучение влияния этой субстанции на микробиоценоз кишечника крыс. Полученные результаты свидетельствуют о том, что при пероральном поступлении инактивированной зооглеи *Medusomyces gysevii* в организм млекопитающих в толстом отделе кишечника происходит изменение количественного соотношения микроорганизмов, что отражается в снижении грибов рода *Candida*, а также в увеличении числа животных с возросшим уровнем лакто- и бифидобактерий.

Ключевые слова: пребиотик, *Medusomyces gysevii*, чайный гриб, зооглея, микрофлора, кишечник

Nowadays, dysbioses is a very important problem. The most effective way to correct them is preferable to use prebiotics. Due to a wide range of biochemical constituents of microbial origin, zoogloea of a natural symbiont *Medusomyces gysevii* (kombucha) is a potential raw material which can be used like an object to produce a prebiotic. Study of the effect of this substance on microbiocenosis of intestine of rats was conducted. The results indicate that the oral admission of inactivated *Medusomyces gysevii* zoogloea by mammals changes the quantitative composition of microorganisms' relationship in the large intestine, which is reflected in the reduction of *Candida* fungi, as well as in the increase of the number of animals with increased level of lactobacilli and bifidobacteria.

Keywords: prebiotic, *Medusomyces gysevii*, kombucha, zoogloea, microflora, intestine

Нормальная микрофлора желудочно-кишечного тракта является одним из основополагающих факторов поддержания здоровья организма [5]. Все большую популярность среди эффективных средств, способствующих самовосстановлению микрофлоры кишечника посредством стимуляции собственных популяций бактерий [10], приобретают принципиально новые препараты, созданные на основе компонентов микробных клеток или их метаболитов. Актуальна разработка новых препаратов пребиотиков, обладающих поликомпонентным составом, которая в первую очередь заключается в поиске и подборе сырья, отвечающего как можно большему количеству требований, предъявляемых к субстанциям, способствующим самовосстановлению собственной кишечной микрофлоры.

В связи с вышеизложенным в качестве потенциального сырьевого объекта, за счет широкого спек-

тра биохимических составляющих микробного происхождения, нами рассмотрена плотная биомасса (зооглея) симбионта *Medusomyces gysevii* (чайный гриб).

Зооглея *Medusomyces gysevii* (чайный гриб) состоит из микробной массы (уксуснокислые бактерии, дрожжи) и метаболитов микробного происхождения: слизистой основы, лигнина, клетчатки, которая включает в себя целлюлозу, гемицеллюлозу [13, 14], и ферментативной жидкости, составляющей до 90 % от общего объема. Ферментативная жидкость имеет достаточно сложный химический состав: органические кислоты (яблочная, молочная, уксусная, глюкуроновая, глюконовая, лимонная, щавелевая, пировиноградная, фосфорная), этиловый спирт, сахара (моносахариды, дисахариды), витамины (С, В₁, РР, D), ферменты (амилаза, сахараза, протеаза, каталаза), липиды (фосфатиды, стерины, жирные кислоты), пигменты, пуриновые основания, дубильные веще-

sonnei, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* [11, 12].

gyusevii (чайный гриб) на микробиоценоз толстого кишечника крыс.

пользована зооглея *Medusomyces gysevi*, находящаяся в двадцатисуточной культуральной жидкости. Для

оптического эффекта для инактивации микробной составляющей массу зооглеи перед скармливани-

пероральном применении зооглеи *Medusomyces gusevii* (чайный гриб) проводилось на 60 половоз-

дартным методикам [7].

вания послужили фекалии крыс. Пробу для исследования брали из средней или последней порции

гомогенизировали ее в таком объеме физиологического раствора (0,85 % раствор хлорида натрия,

ли стеклянной палочкой и оставляли при комнатной температуре на 10–15 минут. Далее готовили даль-

пени зависит от набора и качества используемых селективных питательных сред. При проведении данно-

аэробных условиях и в условиях анаэробноза 72 часа производили учет и идентификацию выросших микро-

$$M = N \times 10^{n+1}$$

где М – количество микроорганизмов в 1 г фекалий;

N – количество выросших на чашке колоний;

n – степень разведения фекалий.

чика колонии микроорганизмов Scan 100 (Interscience, Франция).

низмов производили по характерным культуральным свойствам на агаровых средах, по наличию характер-

Imager 2 (A2) (Carl Zeiss Microscopy, Германия), микроскопа Axio ZOOM.V16 (Carl Zeiss Microscopy, Герма-

дования проводили с использованием программы Primer of Biostatistics (Version 4.03).

пе эксперимента, до кормления крыс зооглеей *Medusomyces gysevii*, у всех экспериментальных жи-

вотных, вошедших в опытную и контрольную группы, было проведено фоновое бактериологическое исследование содержимого толстого кишечника.

Принципиальных отличий в качественном и количественном составе микрофлоры толстого отдела кишечника крыс, отобранных в контрольную и опытную группы, не наблюдалось (табл. 1). Патогенные микроорганизмы и микроорганизмы рода *Proteus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, гемолизирующая флора у всех экспериментальных крыс до начала кормления зооглеей *Medusomyces gysevi* нами не обнаружены.

Анализ состава микрофлоры толстого отдела кишечника крыс контрольной группы, проведенный после окончания эксперимента, показал отсутствие качественных и достоверных количественных изменений по сравнению с данными, полученными на начальном этапе у этих животных (табл. 1). После перорального приме-

нения зооглеи *Medusomyces gysevi* установлены количественные изменения показателей кишечной микрофлоры у экспериментальных крыс опытной группы (табл. 1). Так, отмечено достоверное увеличение количества *Bifidobacterium spp.* на 10,6 %, *Lactobacillus spp.* – на 12,6 %, снижение количества *Candida spp.* – на 16,3 %.

Патогенные микроорганизмы и микроорганизмы рода *Proteus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, гемолизирующая флора у всех экспериментальных крыс опытной группы после кормления их зооглеей *Medusomyces gysevi* нами не обнаружены.

Из данных внутригруппового анализа состава микрофлоры кишечника крыс (табл. 2) видно, что в контрольной группе после окончания эксперимента не наблюдалось качественных и количественных изменений по сравнению с данными, полученными на начальном этапе у этих животных.

Таблица 1

Качественный и количественный состав микрофлоры толстого кишечника крыс, Ig КОЕ/г (M±m)

Микрофлора	Начало эксперимента		Завершение эксперимента	
	Контрольная группа, n=30	Опытная группа, n=30	Контрольная группа, n=30	Опытная группа, n=30
<i>Bifidobacterium spp.</i>	7,79±0,38	7,85±0,34	7,84±0,27	8,68±0,16*
<i>Lactobacillus spp.</i>	6,89±0,22	6,92±0,31	6,85±0,19	7,79±0,31*
<i>Escherichia coli</i>	4,16±0,13	4,11±0,17	4,06±0,15	4,79±0,32
<i>Candida spp.</i>	2,67±0,22	2,63±0,18	2,46±0,23	2,20±0,07*

*(P<0,05) – в сравнении с показателями данной группы на начальном этапе эксперимента.

Таблица 2

Частота выявления отдельных представителей микрофлоры толстого кишечника крыс, %

Срок исследования	<i>Bifidobacterium spp.</i>			<i>Lactobacillus spp.</i>					<i>Escherichia coli</i>			<i>Staphylococcus spp.</i>			<i>Candida spp.</i>		
	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁹	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁹	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ²	10 ⁴	10 ⁵	10 ²	10 ³	10 ⁶
Контрольная группа																	
Начало эксперимента, % выделения	63,3	–	36,7	–	13,3	80	–	6,7	60	6,7	33,3	–	–	26,7	63,3	26,7	10
Завершение эксперимента, % выделения	60	–	40	–	16,7	80	–	3,3	60	10	30	–	–	26,7	60	30	10
Опытная группа																	
Начало эксперимента, % выделения	60	–	40	20	–	–	80	–	66,6	6,7	26,7	–	–	23,3	60	33,3	6,7
Завершение эксперимента, % выделения	–	46,7	53,3	–	13,3	–	–	86,7	26,7	40	33,3	–	–	20	83,3	16,7	–

При этом внутригрупповой анализ данных в опытной группе показал:

– *Bifidobacterium spp.* до начала применения субстанции *Medusomyces gysevi* обнаружены в количестве 10⁹ КОЕ у 40 % животных и 10⁶ КОЕ – у 60 %; после применения *Medusomyces gysevi* 10⁹ КОЕ – у 53,3 % животных и 10⁷ КОЕ – у 46,7 %.

– *Lactobacillus spp.* до начала применения субстанции *Medusomyces gysevi* обнаружены в количестве 10⁸ КОЕ у 80 % животных и 10⁵ КОЕ – у 20 %; после применения *Medusomyces gysevi* 10⁹ КОЕ – у 86,7 % животных и 10⁶ КОЕ – у 13,3 %.

– *Escherichia coli* до начала применения субстанции *Medusomyces gysevi* обнаружена в количестве 10⁵ КОЕ у 26,7 % животных, 10⁴ КОЕ – у 6,7 % и

10³ КОЕ – у 66,6 %; после применения *Medusomyces gysevi* 10⁵ КОЕ – у 33,3 % животных, 10⁴ КОЕ – у 40 %, 10³ КОЕ – у 26,7 %.

– *Staphylococcus spp.* до начала применения субстанции *Medusomyces gysevi* обнаружен в количестве 10⁵ КОЕ у 23,3 % животных; после применения *Medusomyces gysevi* 10⁵ КОЕ – у 20 % животных.

– *Candida spp.* до начала применения субстанции *Medusomyces gysevi* обнаружены в количестве 10⁶ КОЕ у 6,7 % животных, 10³ КОЕ – у 33,3 %, 10² КОЕ – у 60 %; после применения *Medusomyces gysevi* 10³ КОЕ обнаружены у 16,7 % животных, 10² КОЕ – у 83,3 %.

Полученные результаты согласуются с имеющимися данными М. Н. Вережкиной, В. В. Хачатряна [1, 9]. Однако в их исследованиях с целью коррекции ми-

крофлоры кишечника у человека и животных использовали только культуральную жидкость, в которой снижено содержание или отсутствует ряд веществ, присутствующих в зооглее *Medusomyces gusevii* (чайный гриб) и являющихся признанными пребиотиками. Эти исследования доказывают симбиотическое действие культуральной жидкости, в котором долю пребиотического эффекта трудно оценить за счет отсутствия возможности четкой унификации и стандартизации микробной составляющей. Следует отметить, что на практике именно зооглея остается не использованным побочным сырьем после получения культуральной жидкости, которая широко применяется в пищевой промышленности. Однако до сегодняшнего дня в этом направлении исследований зооглеи *Medusomyces gusevii* (чайный гриб) не было.

Литература

1. Веревкина, М. Н., Природные микробные ассоциации / М. Н. Веревкина, Е. В. Светлакова, С. Н. Поветкин, С. В. Пруцаков // Ветеринария Кубани. – 2010. – № 4. – С. 19–20.
2. Волкова, Е. В. Особенности микробной сукцессии кишечника крыс в норме и при экспериментальном дисбактериозе в постнатальном онтогенезе / Е. В. Волкова, Н. И. Гандрабурова // Экология человека. – 2006 (Прил. 4/2). – С. 69–71.
3. Даниелян, Л. Т. Чайный гриб и его биологические особенности / Л. Т. Даниелян. – М.: Медицина, 2005. – 83 с.
4. Добрыня, Ю. М. Динамика амилолитической активности культуральной жидкости *Medusomyces gusevii* (чайного гриба) в процессе культивирования / Ю. М. Добрыня, С. С. Аванесян, Н. И. Бондарева [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3. – Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=18777>
5. Лаздин, О. А. Микробиоценоз кишечника и его коррекция / О. А. Лаздин, В. М. Червинец, Т. Д. Табакова. – Тверь, 1999. – 60 с.
6. Методы контроля продуктов детского, лечебного питания и их компонентов: МУК 4.2.577-96.
7. Методики клинических лабораторных исследований: справочное пособие / под ред. В. В. Меньшикова. – М.: Лабора, 2009. – Т. 3. – 880 с.

References

1. Verevkin M. N., Svetlakova E. V., Povetkin S. N., Prucakov S. V. *Veterinarija Kubani*. – *Veterinarija Kubani*. 2010;4:19-20.
2. Volkova E. V., Gandraburova N. I. *Jekologija cheloveka*. – *Human ecology*. 2006;4(2):69-71.
3. Danieljan L. T. *Chajnyj grib i ego biologicheskie osobennosti*. Mocsow: «Medicina», 2005.
4. Dobrynja J. M., Avanesjan S. S., Bondareva N. I., Timchenko L. D., Rzhepakovskij I. V., Simechjova E. I. *Sovremennye problemy nauki i obrazovanija*. – *Modern problems of science and education*. 2015;3.
5. Lazdin O. A., Chervinec V. M., Tabakova T. D. *Mikrobiocenozi kishhechnika i ego korrekciya*. Tver', 1999.
6. *Metodi kontrolja productov detskogo, lechebnogo pitaniya i ih komponentov*: MUK 4.2.577-96.
7. Men'shikov V. V. *Metodiki klinicheskikh laboratornyh issledovanij: Spravochnoe posobie*. M.: «Labora», 2009.

Заключение. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что при пероральном поступлении зооглеи *Medusomyces gusevii* в организм млекопитающих в течение 30 дней в дозировке 160 мг на 1 кг веса в сутки в толстом отделе кишечника происходит изменение количественного соотношения микроорганизмов. Это выражается в увеличении уровня *Lactobacillus spp.* на 12,6 %, *Bifidobacterium spp.* – на 10,6 %, в снижении *Candida spp.* – на 16,3 %. Полученные результаты, по нашему мнению, подтверждают наличие пребиотического действия испытуемой субстанции.

Исследование проведено при финансовой поддержке Минобрнауки России, в рамках выполнения базовой части государственного задания (2014/216).

8. Пенькова, Н. И. Микробиоценоз кишечника белых крыс при несбалансированном кормлении в лабораторных условиях / Н. И. Пенькова, Г. Н. Блажнова // Биологическое разнообразие Кавказа: материалы X Международной конф. – Назрань, 2008. – С. 350–351.
9. Хачатрян, В. В. Чайный гриб / В. В. Хачатрян. – М.: Дилла, 2012. – 240 с.
10. Чичерин, И. Ю. Аутопребиотикотерапия / И. Ю. Чичерин, И. П. Погорельский, И. А. Лаундовских [и др.] // Журнал инфектологии. – 2013. – Т. 5, № 4. – С. 43–54.
11. Юркевич, Д. И. Метод 1H ЯМР спектроскопии в исследовании экзометаболитов развивающихся микроорганизмов: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.02 / Юркевич Д. И. – Пушchino, 2002. – 201 с.
12. Battikh, H. Antimicrobial effect of Kombucha analogues LWT / H. Battikh, A. Bakhrouf, E. Ammar // Food Sci. Technol. – 2012. – Vol. 47, № 1. – P. 71–77.
13. Jayabalan, R. Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation / R. Jayabalan, S. Marimuthu, K. Swaminathan // Food Chemistry. – 2007. – Vol. 102, № 1. – P. 392–398.
14. Kozzyrovska, N. O. Kombuchamicrobiome as a probiotic: a view from the perspective of post-genomics and synthetic ecology / N. O., Kozzyrovska, O. M., Reva, V. B., Goginyan, J. P. de Vera // Biopolymers and Cell. – 2012. – Vol. 28, № 2. – P. 103–113.

8. Pen'kova, N. I., Blazhnova, G. N. *Biologicheskoe raznoobrazie Kavkaza: materiali X Mezhdunarodnoj konferencii*. Nazran, 2008. P. 350-351.
9. Hachatrjan V. V. *Chajnyj grib*. Moscow: «Dila», 2012.
10. Chicherin I. Ju., Pogorel'skij I. P., Laundovskih I. A., Gavrilov K. E., Shabalina M. R., Dramov I. V. *Zhurnal infekologii*. – *Journal of Infectology*. 2013;5(4):43-54.
11. Jurkevich D. I. *Metod 1N JaMR spektroskopii v issledovanii jekzometabolitov razvivajushhihsja mikroorganizmov*. Pushhino, 2002. 201 p.
12. Battikh H., Bakhrouf A., Ammar E. *Food Science and Technology*. 2012;47(1):71-77.
13. Jayabalan R., Marimuthu S., Swaminathan K. *Food Chemistry*. 2007;102(1):392-398.
14. Kozzyrovska N. O., Reva O. M., Goginyan V. B., J. P. de Vera. *Biopolymers and Cell*. 2012;28(2):103-113.

Сведения об авторах:

Бондарева Надежда Ивановна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник;
тел.: 89187595603; e-mail: nadusha.bondareva@gmail.com

Тимченко Людмила Дмитриевна, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующая лабораторией;
тел.: 89054173022; e-mail: l_timchenko@mail.ru

Алиева Елена Васильевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики
с курсом бактериологии; тел.: 89624013896; e-mail: elaljeva.ru@mail.ru

Добрыня Юлия Михайловна, аспирант; тел.: 89187517996; e-mail: dobrunajulia@rambler.ru

Гандрабурова Надежда Ивановна, кандидат биологических наук, начальник отдела; тел.: 89054656928; e-mail: nadivgan@mail.ru

Писков Сергей Иванович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник; тел.: 8-905-419-1482; e-mail: piskovsv77@mail.ru

Калмыкова Людмила Ивановна, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией;
тел.: 8-962-4013896; e-mail: elaljeva.ru@mail.ru