

Даниелян Л.Т

**«Чайный гриб и его биологические  
особенности»**

2005

## Оглавление

От автора .....	3
Предисловие .....	4
Введение .....	5
Общая характеристика чайного гриба .....	8
Антибактериальная активность культуральной жидкости различных образцов культуры чайного гриба.....	10
Химический состав культуральной жидкости чайного .....	11
Биологическая активность культуральной жидкости чайного гриба и ее зависимость от кислотности .....	14
Антибактериальные вещества, выделенные из культуральной жидкости чайного гриба .....	16
Методы определения антибактериальной активности культуральной жидкости чайного гриба.....	22
Морфологические и физиологические изменения бактерий под воздействием чайного гриба.....	29
Физиологические изменения бактерий .....	31
Влияние чайного гриба на дыхание бактерий.....	34
Влияние чайного гриба на антигенные свойства паратифозных бактерий.....	36
Устойчивость бактерий к бактерицидину.....	38
Резистентность бактерий в опытах in vitro .....	39
Резистентность бактерий в опытах in vivo .....	40
Чувствительность антибиотикоустойчивых микроорганизмов к бактерицидину ....	42
Влияние биологических жидкостей на антибактериальную активность чайного гриба .....	46
Влияние сыворотки крови, плазмы, цельной крови и других жидкостей на антибактериальную активность чайного гриба .....	47
Влияние желудочного сока на биологическую активность чайного гриба .....	48
Влияние чайного гриба на организм .....	50
Клинические исследования.....	50
Гистологическая картина паренхиматозных органов животных после применения чайного гриба .....	51
Влияние чайного гриба на первичную культуру клеток из почек новорожденных крольчат .....	54
Влияние чайного гриба на картину крови .....	55
Влияние чайного гриба на ретикулоэндотелиальную (моноклеарную) систему. ....	60
Влияние чайного гриба на сердечно-сосудистую систему .....	62
Влияние чайного гриба на секреторную функцию желудочных желез.....	65
Влияние чайного гриба на моторную функцию и периодическую деятельность желудка .....	67
Литература о чайном грибе ( <i>Medusomyces Gisevii</i> ) .....	70

## От автора

Сегодняшние успехи человечества, в основе которых лежат достижения прошедших времен, станут источником прогресса в будущем. И так будет всегда, пока есть жизнь на Земле. «История, в том числе древнейшая, — не давно прошедшее вчера, но важнейшее звено живой связи времен...» (А.С. Пушкин).

В.Н. Шефнер в своем стихотворении пишет:

Распадаясь на микрочастицы, Жизнь минувшая не умерла. И когда-то умершие птицы Пролетают сквозь наши тела. Мир пронизан минувшим. Он вечен. С каждым днем он богаче сто крат. В нем живут наши давние встречи И погасшие звезды горят.

А. Лоуэлл говорил: «Цель научной исследовательской работы — продвижение не ученого, а науки».

Следует вспомнить слова И. П. Павлова: «Не кладовая ли науки — народ? И чем более берет интеллигенция из этой кладовой, тем плодотворнее историческая жизнь нации».

В.А. Манассеин подчеркивает, что «врачи многому научились у народа, воспользовавшись рядом народных средств».

Так, история чайного гриба имеет такую же давность, как и Библия, разве она может исчезнуть бесследно? Культуральная жидкость чайного гриба, получившая название божественного напитка, имеющая опыт вековой народной медицины, разве не может вызвать интерес научного мира? Это то же, что искусство эпохи Возрождения не стало бы стимулом его дальнейшего развития.

Считаю своим долгом принести глубокую благодарность моей внучке Лусинэ Бояджян за организацию и оформление представленной книги, сыну — Гагику Шакарян и дочери Элеоноре Шакарян за создание условий, поддержку, участие и продвижение решения проблем чайного гриба, Паносяну Саркису за помощь в организационной работе.

Приношу также свою благодарность и признательность всем лицам, оказавшим помощь и принявшим участие в решении тех или иных вопросов данной проблемы.

В настоящей книге проф. Л.Т. Даниелян (Л.Т. Даниело-вой) впервые обобщены результаты многолетних, углубленных экспериментальных исследований, отражающих биологические свойства чайного гриба (*Kombucha*).

Изучение этих естественно сложившихся симбионтов было начато еще в 1947 г. автором книги совместно с проф. Г.А. Шакаряном, их учениками и сотрудниками. Всестороннее изучение проблемы с обобщением результатов многогранных и широких исследований *in vitro* и *in vivo* на различных вирусах.

## Предисловие

Работа с животными с использованием культуральной жидкости чайного гриба для лечения людей позволило автору вскрыть уникальные свойства этой культуры. Установлено ингибирующее и стимулирующее действие указанного препарата на различные физиологические функции организма, в том числе влияние на иммунную систему.

Автором показано, что культуральная жидкость чайного гриба, названная бактерицидином, или напитком «Hongo», безвредна, не оказывает побочного действия, не вызывает селекции антибиотикоустойчивых микроорганизмов, в том числе патогенных. Кроме того, культуральная жидкость чайного гриба обладает лечебно-профилактическим свойством: при кишечных инфекциях регулирует микрофлору за счет ингибирующего действия на патогенные микроорганизмы и многократного увеличения молочно-кислых бактерий в кишечнике.

Л.Т. Даниелян изучала не только биологические свойства культуральной жидкости чайного гриба. Она разработала методы получения из нее биологически активных кристаллов, обладающих свойствами, присущими исходному препарату.

Представленная работа особенно ценна тем, что для исследований использован один и тот же образец культуры чайного гриба. Между тем в научной литературе опубликованы результаты исследований, проведенных на неоднородных образцах чайного гриба, которые имеют отрывочный и нередко противоречивый характер.

Эта книга свидетельствует о безвредности и весьма полезных свойствах культуральной жидкости чайного гриба, указывающих на возможность ее широкого применения в медицинской и ветеринарной практике. С этой точки зрения книга Л.Т. Даниелян имеет, несомненно, теоретическое и практическое значение, являясь полезной и нужной. Она представит интерес не только для специалистов, но и для более широкого круга читателей.

Отрадно, что автор и ее ученики продолжают и в настоящее время изучать эту актуальную проблему.

Академик

Национальной академии наук Армении

Ю.Т. Алексанян

## Введение

Проблема изыскания новых антибиотических веществ, несмотря на наличие многочисленных высокоэффективных лечебно-профилактических препаратов, до сих пор остается актуальной.

Необходимость таких изысканий обусловлена многими причинами, одной из которых является нарастание устойчивости микроорганизмов к антибиотикам вследствие их широкого применения в медицине, ветеринарии и животноводстве. Установлено, что скорость появления устойчивых штаммов особенно выражена у стафилококков, энтерококков, кишечной и дизентерийной палочек. Особое значение приобретает распространение патогенных стафилококков, обладающих устойчивостью одновременно к нескольким антибиотикам, вследствие чего они становятся эпидемически опасными. Кроме того, наблюдается активизация некоторых представителей патогенной и условно-патогенной микрофлоры: например, синегнойной палочки, иерсинии, кишечной палочки, *Proteus vulgaris*, а также ряда патогенных грибов. В связи с этим проблема ликвидации таких инфекционных заболеваний, как дизентерия, сальмонеллез, коли-энтерит, токсическая диспепсия и др., остается неразрешимой.

Очевидно, что в борьбе с устойчивыми формами микроорганизмов возникает необходимость замены широко применяющихся антибиотиков новыми и создание так называемого резерва, т.е. препаратов, которые можно использовать при развитии резистентности у возбудителей. Продолжаются поиски препаратов против опухолевых и вирусных заболеваний, так как предлагаемые ныне средства, обладающие противоопухолевой активностью, в основном токсичны в отношении нормальных клеток организма.

При специфической терапии нередко снижаются защитно-приспособительные реакции организма, а также эффективность лечения. Это побудило ученых заняться проблемой сочетания специфической терапии с различными средствами повышения естественной сопротивляемости организма к инфекции в целях мобилизации его защитно-приспособительных реакций. Научная мысль стремится получить стимуляторы, усиливающие защитно-приспособительные реакции организма: гормональной деятельности системы гипофиз — кора надпочечников, фагоцитарной функции микро- и макрофагов, опсонизирующей способности сыворотки крови.

Ряд антибиотиков, особенно широкого спектра действия, наряду с лечебным эффектом может вызвать тяжелые аллергические реакции, интоксикацию, а также дис-бактериоз. В животноводстве, например, такие антибиотики, как тетрациклин, пенициллин, стрептомицин и др., оказывают положительное действие на ряд физиологических систем при использовании малых доз. При хранении ряда биологических препаратов и пищевых продуктов возникают аллергические и другие побочные реакции организма; кроме того, они способствуют селекции лекарственно-устойчивых форм бактерий. В связи с этим ученые обратились к народной медицине, прошедшей вековые испытания.

При поисках новых антибиотиков, по-видимому, следует шире изучать вековой опыт народной медицины. Еще И.П. Павлов отмечал: «Не кладовая ли науки —

народ? И чем более берет интеллигенция из этой кладовой, тем плодотворнее историческая жизнь нации».

Мы многие годы (с 1947 г.) работаем над проблемой применения антибиотиков в ветеринарии и животноводстве и сочли целесообразным всесторонне изучить широко применяющееся народное средство — культуральную жидкость чайного гриба как биостимулятор и продуцент антибиотических веществ.

Чайный гриб является биологическим объектом. Он представляет собой симбиоз, возникший в естественных условиях. Антибиотическое вещество, продуцируемое им, в отличие от продуцентов монокультур является безвредным продуктом симбионтов, обладающим ценными свойствами.

Чайный гриб получил широкое распространение в быту населения бывшего Советского Союза и других стран: Германии, Чехии, Словакии, Италии и др. Культуральная жидкость этой ассоциации употребляется в основном как освежающий напиток, а в народной медицине как лечебное средство при различных заболеваниях. Это привлекло внимание научной общественности. Первые сведения о чайном грибе появились в 1913 г., а более углубленные научные данные — в 40-е годы XX в. Эти сведения были, как правило, случайными, бессистемными и непоследовательными, часто противоречивыми. Исследования относились в основном к отдельным вопросам биологии, морфологии, попыткам получения витамина С и активных веществ. Все полученные данные в силу своей отрывочности не могли дать обобщенное представление об этой культуре и ее ценных свойствах. Несмотря на наличие фактов, подтверждающих научно-практическую ценность культуральной жидкости чайного гриба и повышение интереса ряда ученых мира к этой культуре, она все же не получила практического применения ни в биологии, ни в медицине.

Ранее все исследования проводились на разных образцах культуры чайного гриба, у которых видовой состав симбионтов был неоднороден. Отсюда очевидна необходимость рассмотрения всех известных данных и результатов собственных исследований, проведенных на одном образце чайного гриба.

Полученные нами данные позволили вскрыть весьма важные и полезные свойства культуральной жидкости чайного гриба, представляющие немаловажное социальное значение и интерес как для медицины, так и для ветеринарии.

На базе ООО «Сантос» была организована научно-исследовательская лаборатория, в задачу которой входило дальнейшее изучение проблемы чайного гриба (Kot-bucha), как его культуральной жидкости, так и выделенных из нее кристаллических антибактериальных веществ. Наряду с этим по разработанной нами технологии налажено производство культуральной жидкости чайного гриба под названием «бактерицидин» для медицинских целей и оздоровительного напитка «Hongo». Выпускаемая продукция обладает рядом свойств:

- антибактериальной активностью с широким спектром действия;
- стимулирующим физиологические процессы организма действием;
- повышает тонус и иммунологический статус организма;

## Даниелян Л.Т. «Чайный гриб и его биологические особенности»

- улучшает обменные процессы;
- обеспечивает устойчивость организма к неблагоприятным факторам, в том числе к различным инфекциям;
- регулирует пищеварение и кишечную микрофлору, выводит токсины из организма, оказывает детокси-ческое действие.

Чайный гриб и напиток «Hongo» могут быть использованы при иммунодефицитах, общей слабости, гастритах, колитах, а также при ожогах, кишечных и раневых инфекциях различной этиологии.

## Общая характеристика чайного гриба

В 1928 г. Д.М. Щербачев Охарактеризовал чайный гриб так: «Гриб имеет вид непривлекательной студенистой массы округлой формы в виде диска в 5—10 см и больше в поперечнике. Она делается кислой и приобретает приятный и вкусный запах. Если жидкость стоит очень долго, то делается очень кислой и неприятной, вроде уксуса».

В быту для культивирования чайного гриба используют кусочек пленки, который помещают в настой чая, содержащий сахар. На 1 стакан чая добавляют 1—2 чайные ложки сахарного песка. Чайный гриб опускается на дно сосуда, так как собственной плавучести не имеет. На 3— 5-й день появляется мелкая цепь пузырьков углекислого Газа. Образующаяся пленка всплывает на поверхность. По внешнему виду она представляет пластинку, имеющую форму сскгуда, в котором выращивается. Жидкость иод пленкой в первые 3-г-4 дня становится мутной, затем светлеет и издает кислый запах, напоминающий запах уксуса. Сосуд с культурой обычно держат накрытым марлей или полотенцем. Следует о™етить, что В быту нет единых правил выращивания чайного гриба.

Культура чайного гриба, как отмечалось, представляет собой сложную микробную ассоциацию, находящуюся в естественном симбиозе в виде массы .(зооглеи) на поверхности жидкости и пылевидного осадка на дне сосуда. Она поддерживается на поверхности питательной среды за счет углекислого газа и частично за счет краевого сцепления с сосудом. Постепенно уплотняясь, масса принимает вид Плотного хрящевого образования светловато желтого, на ощупь очень эластичная и трудноразрываемая. Растущая в покое пленка не дает слоев, поврежденная начинает образовывать новый сдой на поверхности старой, и в результате наблюдается рост ее слоями.; В долго стоящей жидкости образуется много слоев пленок. Обычно от нижнего слоя пленки отходят слизистые тяжи которые часто оседают на дно сосуда и постепенно покрываются пылевидным осадком. Образованная буровато-слизистая масса легко разрывается. При взбалтывании культуральной жидкости вся эта масса поднимается и взмучивает прозрачный настой.



**Рис. 1. Культура чайного гриба *Medusomyces Gisevii* Lindau.**

Питатедьную среду, пленку и придонную часть культуральной жидкости следует рассматривать в их единстве, как неразрывное целое, составляющее организм, который в быту называют «чайный гриб» (рис. 1).

## Даниелян Л.Т. «Чайный гриб и его биологические особенности»

Придонный осадок состоит из смол, таннинов, пылинок чая, дрожжевых грибов и бактерий, которые прекращают свой видимый активный рост еще при наличии 5—4 % неиспользованных Сахаров (при исходных 10 %), что „связано с накоплением в культуральной жидкости продуктов жизнедеятельности, в частности органических кислот. Изменение рН среды приводит к понижению степени размножения этих микроорганизмов и прекращению цикла их развития.

Из анализа данных литературы выяснилась неидентичность микробиологического состава 12 образцов чайного гриба, изучаемого различными исследователями. Несмотря на это, процесс развития их идентичен, но продукты жизнедеятельности могут качественно и количественно различаться. Такое различие видового состава микроорганизмов, входящих в ассоциацию чайного гриба, возможно, влияет на степень биологической активности культуральной жидкости разных образцов этой культуры. Это навело на мысль изучить в сравнительном аспекте биологическую активность культуральной жидкости различных образцов чайного гриба.

## **Антибактериальная активность культуральной жидкости различных образцов культуры чайного гриба**

Для сравнительной оценки биологической активности культуральной жидкости различных образцов чайного гриба были использованы следующие: московские (М, М2, М3), владимирский (В), казанский (К), балашихинский (Б), ереванские (Е1 и Е2).

Взятые в опыт образцы чайного гриба культивировали в одних и тех же условиях при температуре 25 и 30 °С.

Бактериостатическая активность культуральной жидкости указанных образцов чайного гриба, выращенных при температуре 30 °С, нарастала в различной степени и в разные сроки.

Аналогичные результаты были получены при изучении этих же образцов чайного гриба, но выращенных при температуре 25 °С. Нарастание антибактериальной активности нативной жидкости при этой температуре шло медленнее, чем при температуре 30 °С.

Бактериостатическая активность образцов чайного гриба М3, М2, В и К проявлялась лишь на 5-й день развития, а Б — на 6-й день. Наиболее активными по синтезу антибактериальных веществ оказались образцы чайного гриба Е, и М.

Бактериостатическая и бактерицидная активность 15-дневной культуральной жидкости исследуемых образцов чайного гриба в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий оказалась неоднородной не только у различных видов бактерий, но и у одного и того же тест-микроба. Такое различие в биологической активности образцов чайного гриба, очевидно, зависит от географической зоны, симбионты которых возникли.

Учитывая неоднородность биологических свойств различных образцов чайного гриба, очевидно, связанную с различием синтезируемого ими активного начала, мы сочли необходимым дальнейшие исследования провести на культуральной жидкости одного образца чайного гриба.

Избрали образец культуры М, взяв за основу его бактерицидное, действие, превышающее действие культуральных жидкостей других образцов чайного гриба [42].

## Химический состав культуральной жидкости чайного

Культуральная жидкость чайного гриба, являясь продуктом двух комбинированных брожений, вызываемых ассоциирующими микроорганизмами (дрожжами и уксусно-кислыми бактериями), имеет чрезвычайно сложный состав.

Известно, что при сбраживании из сахара образуются спирт и углекислота. В процессе брожения получается и ряд промежуточных веществ, среди которых установлена важная роль фосфорной кислоты. Она участвует в промежуточных этапах брожения и образует сложные эфиры фосфорной кислоты, которые переходят в свободную пировиноградную кислоту. Дальнейшее превращение пировиноградной кислоты зависит от свойств микроорганизма. Дрожжи превращают ее в этиловый спирт, который уксусно-кислые бактерии превращают в уксусную кислоту. Известно, что как дрожжи, так и уксусно-кислые бактерии могут участвовать в синтезе витаминов, по количеству которых можно дифференцировать различные образцы чайного гриба. Так, по данным Е.В. Булатовой, приведенным К.М. Дубровским, количество синтезируемого витамина В, на среде с сахарозой при культивировании некоторых штаммов чайного гриба колеблется от 0,019 до 0,0534 мг в 100 мл культуральной жидкости, что также подтверждает факт различия микробного состава симбионтов, изучаемых образцов чайного гриба.

Сведения о химическом составе культуральной жидкости, по данным литературы, отрывочны и противоречивы, что, очевидно, связано с различием микробного состава изучаемых штаммов чайного гриба.

Химический анализ культуральной жидкости чайного гриба образца М, на наличие органических кислот, спирта, ферментов и белка, образующихся в процессе его жизнедеятельности, проводили по общеизвестным методам.

В первые 5 дней роста чайного гриба обнаружили от 0,037 до 1,39 % глюкуроновой кислоты, которая не выявлялась в последующем. В течение 20 дней роста этой культуры щавелевая кислота обнаруживалась в количестве от 0,02 до 0,06 %, лимонная — от 0,054 до 0,16 %; уксусная — от 0,05 до 1,13 %. Во все дни роста чайного гриба определялись альдегиды [37].

Химический анализ 20-дневной культуральной жидкости чайного гриба был проверен в лаборатории растительных веществ Академии наук СССР, руководимой проф. СМ. Порошковым.

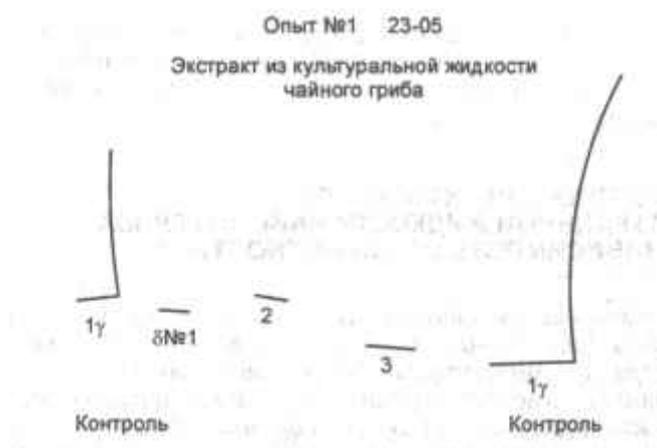
По данным лабораторий, в 100 мл культуральной жидкости этой ассоциации обнаружено 4 мг лимонной кислоты, яблочной кислоты, летучих кислот в — 12 мг. Идентификация летучих адсяТ<sup>1</sup> показала, что они представлены уксусной кислотой. Наряду с указанными кислотами установлено наличие молочной кислоты, этилового спирта, содержание которого в течение 20—25 дней жизнедеятельности чайного гриба колебалось от 0,15 до 0,7 об!%, на 30-й день роста этой ассоциации он не определялся; Установлены \* следы фосфорной кислоты и отсутствие муравьиной.

В 20—30-дневной культуральной жидкости чайного гриба с помощью фелинговой жидкости и путем бродильной пробы установлено наличие

остаточного сахара — от 0,78 до 2,5 % при исходном содержании его в среде 5 %. Такое колебание количества остаточного сахара зависит от биологической активности культуральной жидкости. Так, антибактериальная активность в титре 0,2 мл (1:25) при исходном 5 % содержании сахара составляла 0,78 %, а при 0,6 мл (1:8) — 2,5 %. При исходном 10 % содержании сахара в среде и антибактериальной активности культуральной жидкости чайного гриба 0,3 мл остаток сахара составил 7,28 %.

В культуральной жидкости были обнаружены витамины. Так, в 100 мл 15-дневной культуральной жидкости содержалось 0,31 мг витамина С, в 6-месячной — 4,4 мг, тогда как в среде до культивирования — 0,132 мг. Витамин В, в 100 мл 24-дневной культуральной жидкости чайного гриба было 0,2, 2-дневной — 9, 10-дневной — 8, а в среде до культивирования — 0,1. Определялись дубильные вещества в количестве 0,08 % и пуриновые основания. Получено большое количество смолистых и жироподобных веществ, нерастворимых в воде и спирте.

Белков и нуклеопротеидов в культуральной жидкости чайного гриба оказалось 5,24 %. Нативная жидкость чайного гриба содержала пигменты (хлорофилл, ксантофилл) и пуриновые основания из чайного листа в количестве 0,08 %. Из ферментов установлены амилаза и каталаза.



**Рис. 2. Сокращение изолированной кишки морской свинки Нрд действием чайного гриба.**

Бактерицидин — 5№1; 2, 3 — отсутствие гистамина. Контроль — гистамин 1γ.

Исследования на содержание ацетилхолина и гистамина дали отрицательные результаты (рис. 2).

Результаты наших исследований и данные литературы позволили сделать вывод, что состав культуральной жидкости — весьма сложный и включает следующие группы веществ:

- кислоты органические: уксусная, глюконовая, щавелевая, лимонная, яблочная, молочная, гшровино-виноградная, койевая; спирт этиловый;
- витамины: аскорбиновая кислота, тиамин;

## Даниелян Л.Т. «Чайный гриб и его биологические особенности»

- ферменты: каталаза, липаза, протеаза, карбогидраза; а — липиды: стерины, фоефатиды, жирные кислоты;
- сахара: моносахариды, диеахариды; г — пигменты: хлорофилл, ксантофилл; . - — пуриновые основания из чайного листа;
- смолы и таннины из чайного листа;
- антибиотические вещества.

В литературе имеются сведения об обнаружении в культуральной жидкости койевой кислоты, кофеина, альдоса-харов, ферментов зимазы, левансахаразы и витамина D.

Помимо установления основных компонентов культуральной жидкости чайного гриба, была поставлена задача выяснить роль и взаимосвязь антимикробной активности некоторых компонентов.

## **Биологическая активность культуральной жидкости чайного гриба и ее зависимость от кислотности**

Биологическая активность культуральной жидкости, как полагают ряд ученых, обусловлена антибактериальными веществами, синтезируемыми симбионтами чайного гриба. Однако имеется мнение, что биологическая активность культуральной жидкости связана с высокой кислотностью, возникающей в процессе метаболизма микробных клеток этой культуры.

Нами [35, 36] были проведены исследования динамики нарастания биологической активности нативной жидкости чайного гриба в зависимости от изменения рН.

В культуральной жидкости в процессе жизнедеятельности чайного гриба не наблюдается параллельного изменения биологической активности и рН среды. Кислотность среды возрастает намного раньше, чем ее предельная биологическая активность, которая достигает своего максимума на 8—10-й день и составляет 1:50 (0,1 мл) почти при таком же значении рН среды — 2,0, указывающем на то, что биологическая активность нарастает на 10-й день независимо от значения рН среды.

Аналогичные результаты отмечаются и при изучении динамики нарастания летучих и общих кислот.

Опыты показали отсутствие параллелизма между нарастанием антибактериальной активности и повышением как общей кислотности, так и содержания летучих и нелетучих кислот. При одном и том же титре антибактериальной активности культуральной жидкости (1:16) общая кислотность колеблется от 152 до 199 °Т (Тернера), а летучих кислот — от 138 до 182 °Т, при этом процент уксусной кислоты составляет от 0,83 до 1,09; несмотря на это, биологическая активность культуральной жидкости остается без изменения.

Следует отметить, что серии опытов, проведенных для выяснения влияния исходной реакции (значение рН) среды на синтез активного вещества, также показали независимость нарастания антибактериальной активности культуральной жидкости от ее исходной и общей кислотности. Наиболее благоприятным условием для жизнедеятельности чайного гриба являлась среда с исходным значением рН 4,5—5,5, а не 2,5.

При нейтрализации культуральной жидкости различными щелочами биологическая активность ее снижается, но не исчезает. Так, например, если культуральную жидкость с активностью в разведениях 1:50 — 1:25 нейтрализовать пищевой содой или аммиаком до слабокислой реакции, то ее первоначальная биологическая активность снижается до разведения 1:3 по отношению к кишечной палочке (*E. coli*), а при слабощелочной реакции она неактивна даже в разведении 1:1,5. Последующее подкисление соляной кислотой до значения рН 2,8 восстанавливает ее исходную биологическую активность. Соляная кислота, доведенная дистиллированной водой до значения рН 2,8, не обладает антибактериальной активностью. В щелочной среде антибактериальная активность культуральной жидкости чайного гриба не исчезает, она проявляется позже. В другой серии опытов было показано, что взятые при опыте кислоты

(молочная, уксусная) примерно при том же значении рН (2,76—2,93), что и культуральной жидкости чайного гриба, не обладают бактериостатической активностью в отношении *E.coli*. Эти данные убедительно свидетельствуют о том, что в культуральной жидкости чайного гриба, помимо органических кислот, содержится активное вещество, которое обуславливает ее антибактериальное действие.

Следующую серию опытов проводили для выяснения действия высокой температуры на активное начало культуральной жидкости гриба. Для этого пробы культуральной жидкости гриба подвергали действию температуры 50 °С в течение 1,5 ч, 100 °С — 1 ч и выше 100 °С в течение 30 мин. Выяснилось, что высокая температура, даже автоклавирование под давлением 1,5 атм в течение 30 мин, не оказывает какого-либо воздействия на биологическую активность нативной жидкости чайного гриба, что указывает на ее термостабильность.

Далее изучали влияние выпаривания (при температуре 48 °С) на биологическую активность нативной жидкости этой культуры.

Выяснилось, что выпаривание до 1/10 первоначального объема почти не влияет на антимикробную активность препарата, так как во всех пробах титр остается 0,3 мл (1:16), т.е. таким же, как и до выпаривания. Дальнейшее выпаривание не повышает антибактериальной активности остатка, наоборот, она несколько снижается в связи с незначительным переходом действующего начала в дистиллят. С точки зрения практического применения, очень важное значение имеет длительность сохранения биологической активности нативной жидкости чайного гриба. Культуральную жидкость хранили при комнатной температуре (пределы колебания 15—34 °С) в пробирках, закупоренных ватными пробками и залитых парафином. Через 3 года и 5 лет хранения испарялось до 1/10 первоначального объема, а биологическая активность снизилась с разведения 1:50 до 1:10. Антибактериальная активность культуральной жидкости при хранении во флаконах, закупоренных резиновыми пробками герметично, сохранялась в первоначальном титре. Она сохраняется не только в отношении *E. coli*, но и других паратифозных и дизентерийных бактерий, таких, как *S./sv. paratyphi A*, *S./sv. paratyphi B*, *S./sv. abortusequi*, *Shigella flexneri*, *S./sv. galli-narum*.

На основании полученных результатов мы пришли к выводу, что культуральная жидкость гриба, помимо кислот, содержит активное термоустойчивое вещество.

Активность нативной жидкости чайного гриба проявляется в слабокислой среде. Добавление кислот к культуральной жидкости не повышает ее биологическую активность; в щелочной среде активность не проявляется, но при подкислении вновь восстанавливается. Хранить нативную жидкость чайного гриба при комнатной температуре можно 3—5 лет.

## Антибактериальные вещества, выделенные из культуральной жидкости чайного гриба

Проведенные многочисленные исследования убедили нас в том, что антибактериальная активность культуральной жидкости чайного гриба обусловлена в основном наличием в ней биологически активных веществ. К подобному заключению пришли также некоторые исследователи, что и побудило их заняться изысканием методов извлечения активного начала чайного гриба из культуральной жидкости или ее вегетативной части [7—9, 22, 64, 65, 76, 92, 103, 149, 218]. Эти исследователи примерно водно и то же время, независимо друг от друга, занимались извлечением активного вещества из культуральной жидкости чайного гриба. Однако все попытки в этом направлении не получили своего завершения. Выделенные кристаллические вещества оказались биологически слабоактивными и неизвестной природы. Такая незавершенность, по-видимому, связана как с трудностями поиска эффективного метода извлечения активного вещества из нативной жидкости чайного гриба, так и со сложностью ее химического состава, обусловленного жизнедеятельностью этой ассоциации.

Следует отметить, что чайный гриб, являясь биологическим объектом, интересен особенно тем, что продуцируемое им антибактериальное вещество в отличие от продуцентов монокультур является продуктом ассоциации, возникшей в естественных условиях.

В 1950 г. мы приступили к разработке методов выделения активного начала из культуральной жидкости чайного гриба, используя при этом химию и технологию производства антибиотиков, в частности способы экстракции и адсорбции на ионообменных смолах [34, 35, 49, 52].

В результате трудоемких исследований удалось извлечь биологически активные вещества из культуральной жидкости чайного гриба методом ионообменной адсорбции [49]. По разработанной нами методике получено несколько кристаллических веществ с различной растворимостью в органических растворителях. Выделенные кристаллы были названы кристаллическим бактерицидином КБ, КА, КМ. Они обладали высокой биологической активностью, задерживали рост стандартного штамма *Bac. subtilis* L2, а после промывания эфиром антибактериальная активность их в отношении *Bac. subtilis* L2, *Staph. aureus* 209 повышалась (рис. 3—6).

Анализ элементного состава указанных кристаллов, проведенный А.М. Александряном по нашей просьбе, обнаружил наличие аминного азота (NH) и следующих элементов: H, N, O, S, C1, P.

Полученные из культуральной жидкости чайного гриба кристаллы С-1 и С-2 содержат 92—98 % неорганических веществ. В кристаллах С-1 0,42 % Si, 0,95 % H, золы 98,08 %, а в кристаллах С-2 - 0,23 % С, 0,50 % H, золы 92,13 %. Качественная проба образца С-1 показала наличие в нем иона SO<sub>4</sub>, а в образце С-2 — иона С1. С помощью бумажной хроматографии в кристаллах С-1 обнаружены глутаминовая кислота и валин, а в кристаллах С-2 — аланин.

Биологически активные кристаллы КА, КБ и КМ неодинаково растворяются в метаноле, ацетоне, бутаноле, бензоле, воде и не растворяются в эфире.

Так, кристаллы КМ и КА растворяются в метаноле, а в ацетоне растворяются только кристаллы КА. Это позволяет разделить находящиеся в смеси кристаллы КА и КМ. Кроме того, кристаллы КА и КБ задерживают рост *Bac. subtilis*, *Staph. aureus* 209, *S./sv typhimurium* в разведениях 1:204 000, но не препятствуют росту *E. coli*, а кристаллы, растворимые в метаноле, оказывают подавляющее действие на все культуры, в том числе *E. coli*.

Полученные данные позволили сделать вывод, что в культуральной жидкости чайного гриба содержится не одно антибактериальное вещество, имеются активные вещества, растворимые только в метаноле, и вещества, растворимые как в метаноле, так и в ацетоне, а также вещества, переходящие в эфир, которые являются биологически активными в отношении *E. coli*.

Антибактериальная активность выделенных кристаллов, растворенных в воде, не исчезает при хранении в комнатных условиях, а автоклавирование при давлении 1 атм в течение 25 мин не влияет на их антибактериальную активность. Выделенные кристаллы имеют высокую точку плавления: КБ 245-255 °С, КА 250-260 °С, КМ 225-235 °С.

Элементный состав кристаллов. В состав кристаллов КА, КБ и КМ входит большой процент углерода, азота, несколько меньше водорода и кислорода. Суммарная формула КА после диализа  $C_4H_9N_2O$ , биологическая активность в растворе (мг/мл) 600 ед. разведения; формула КБ  $C_4H_9N_3$ , биологическая активность 400 ед. разведения; КМ —  $C_4H_8N_3$ , биологическая активность 320 ед. разведения. Установлено, что кристаллы КА и КБ не содержат неорганических солей, являются веществами органической природы и полностью сгорают. Кристаллы КМ имеют примеси, содержат неорганические соли в количестве 0,0038 г в 1 г кристаллического вещества. Молекулярная масса кристаллов низкая: у КА — 101, у КБ и КМ - по 99.

Инфракрасная спектроскопия. Анализ физических связей кристаллов проводили в Институте физической и тонкой органической химии АН АрмССР (А. Мушегян, И.К. Хажакян). Оказалось, что извлеченные из культуральной жидкости чайного гриба вещества имеют короткие связи аминокислот, очевидно, состоящих из 3—4 амин-ных связей, которые при наличии двойных связей в кристаллах позволяют отнести их к пептидам с низкой молекулярной массой. КА, КБ и КМ — вещества органической природы, имеющие сходную структуру и относящиеся к пептидам.

Бумажная хроматография. Хроматография, проведенная в лаборатории молочного дела Ереванского зооветеринарного института (Т.А. Ионисян), показала наличие 11 свободных аминокислот, сумма которых в кристаллах КА составляет 434,1 мг%, КБ — 126,94 мг%, КМ — 364,2 мг% в 100 г вещества (табл. 1).

Во всех кристаллах, особенно в КМ, обнаружено наличие свободного тирозина, валина, метионина. Наряду с содержанием полноценных аминокислот обнаружено значительное количество физиологически активных соединений,

содержащих amino- и амидогруппы, вторичные спирты, эфирные группы, которые повышают биологическую ценность продукта.

Помимо свободных аминокислот, методом Лоури обнаружен белок, причем в 10 мг кристаллов КА его в среднем 74,3 мкг, в КБ — 37,5 мкг, а в кристаллах КМ — 13,4 мкг.

Хроматография кристаллов КМ и КА на наличие Сахаров, как и анализы на содержание гликопротеидов, оказалась отрицательной, однако в них обнаружили значительное количество общего азота. Наличие азота в препаратах намного превышало его содержание в белках и аминокислотах, по-видимому, основным действующим началом является азотсодержащее вещество небелковой природы.

**Таблица 1. Содержание свободных аминокислот в кристаллах, извлеченных из культуральной жидкости чайного гриба:**

Даниелян Л.Т. «Чайный гриб и его биологические особенности»

Аминокислоты	Содержание аминокислот, мг% в 100 г		
	КА (3,4 мкг)	КБ (5,8 мкг)	КМ (120 мкг)
Цистин	32,0	20,0	29,0
Лизин	3,8	5,04	7,6
Гистидин	3,2	10,7	8,0
Аргинин	13,2	15,0	18,0
Серии + аспарагиновая кислота	309,0	10,8	144,8
Глицин + глутаминовая кислота	4,4	2,6	13,0
Аланин	8,0	10,7	? 13,8
Тирозин	16,0	22,0	siOjO
Валин + метионин	17,5	5,1	50,0
Фенилаланин	—	f. —	.—.
Лейцин—изолейцин	27,0	25,0	30,0
Всего...	434,1	126,94	364,2



Рис. 3. Кристаллы КБ после диализа.

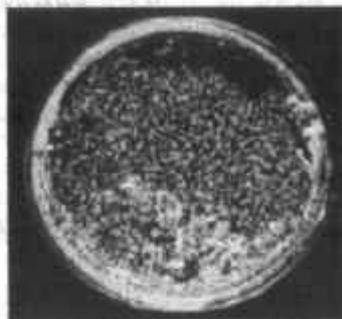


Рис. 4. Кристаллы КМ.

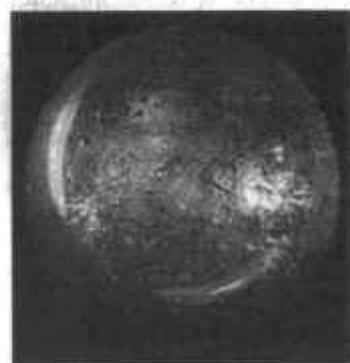


Рис. 5. Кристаллы на дне колбы, экстрагированные эфиром.

Рис. 6. Кристаллы КА.

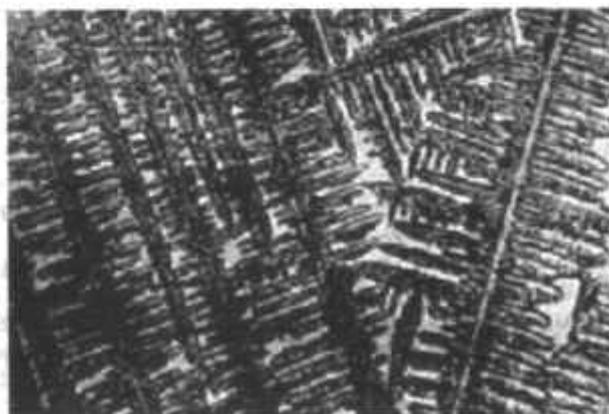


Рис. 7. Дебаеграмма кристаллов КА.

$X = 0,15 \text{ нм}$ ;  $U = 25 \text{ кВ}$ ;  $I_a = 10 \text{ мА}$ ; экспозиция 3 Ч.

Рентгеноструктурный анализ. Рентгенограмма поли-кристаллических веществ (КМ, КБ и КА) позволила установить их мелкодисперсность различной степени. В образцах КМ и КБ кристаллы имеют размеры порядка десятков микрон, а у кристаллов КА более высокая степень дисперсности — порядка 0,1 мкм (рис. 7).

Мелкодисперсность, по-видимому, увеличивает реакционную поверхность препарата, что обуславливает проявление высокой биологической активности.

Результаты рентгеновских исследований, анализ инфракрасного спектра, а также данные хроматографии показали, что молекулярная и физическая структура этих веществ такова, что в них проявляется способность образования активных групп, обладающих связывающей функцией между мегамолекулами, что является» очевидно, одной из причин их высокой биологической активности. Выделенные кристаллы представляют собой вещества органической природы с высокой точкой плавления, антибактериальная активность которых не меняется при хранении в условиях комнатной температуры. г .- Следует отметить, что не менее ценными свойствами обладает и культуральная жидкость чайного гриба, содержащая витамины, ферменты, органические кислоты и другие вещества, оказывающие положительное действие на организм.

Ценность чайного гриба заключается в том, что, будучи безвредным, он в отличие от других антибиотиков может быть использован в медицине, ветеринарии и сель-рвом хозяйстве как биостимулятор и антибактериальный препарат в двух видах: нативной жидкости и высокоак-зного биологического кристаллического препарата [28, 45, 55]. В этом преимущество культуры чайного гриба перед другими продуцентами антибактериальных веществ. Изучение свойств столь широко используемой в быту культуральной жидкости чайного гриба, с нашей точки зрения, имеет не только научное значение, но и большой практический интерес.

## Методы определения антибактериальной активности культуральной жидкости чайного гриба

Одним из важных свойств культуральной жидкости является биологическая активность, степень которой во многом зависит от условий и методов ее определения.

Антибактериальную активность культуральной жидкости определяли общепринятыми методами, основанными на подавлении роста тест-микроба, чувствительного к действию препарата, с учетом состава и реакции питательной среды, а также вида тест-культуры.

В качестве питательной среды использовали мясопеп-тонный бульон (МПБ) и мясопептонный агар (МПА) со значением рН 6,6—7,8 и ниже (6,4—6,5); среды, содержащие 1 % глюкозы и бульон из гидролизата кильки в двукратно меньшей концентрации с рН 6,4—6,5.

Опыты показали, что титрация антибактериальной активности культуральной жидкости чайного гриба на МПБ и МПА с глюкозой и без нее, а также на бульоне из гидролизата кильки методом последовательного разведения дает одинаковые результаты.

Степень проявляемой активности культуральной жидкости этой ассоциации зависит также от тест-микроба и его плотности. В качестве тест-микроба использовали взвесь суточной культуры *E. coli* в количестве 10 млн, лучше 100 000 микробных тел в 1 мл или 1000—2000 спор *Bac. subtilis* L2 в 1 мл.

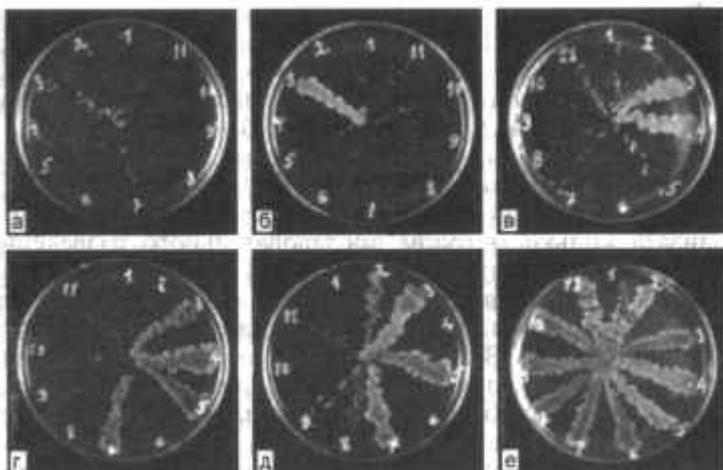
Антибактериальную активность культуральной жидкости определяли методом бороздки (Флеминга), цилиндровой пробы, методом диффузии в агар на чашках Петри с вырезанными лунками, а также методом дисков. Кроме того, испытывали способ добавления различных доз препарата к 5 мл питательной среды и метод серийных разведений по Синеву и Растегаевой (1948) на жидких и твердых средах в пробирках и биологических чашках. Учитывали разработанные нами условия определения биологической активности культуральной жидкости чайного гриба.

Для выяснения температуры и сроков инкубации посевов засеянные среды выдерживали в термостатах параллельно при температуре 26 и 37 °С в течение 16, 18, 24, 48 ч и более. Результаты при сроках инкубации посевов от 16 до 40 ч были одинаковыми.

Титром биологической активности культуральной жидкости при последовательном разведении на жидких и твердых средах мы считаем то наименьшее количество ее, которое вызывает полную задержку роста тест-микроба в МПБ или на МПА с рН 6,4—6,5 при температуре инкубации 36—37 °С в течение 16—18 ч. Аналогичные результаты получены и при инкубации посевов на жидкой питательной среде в течение 24—48 ч.

Результаты опытов показали, что методом серийных разведений можно наиболее точно определить количество препарата, вызывающего задержку роста

тест-микроба, при этом из взятых в опыт тест-микробов лучшие показатели были получены при использовании культуры *Dве. subtilis* L2 (рис. 8).



**Рис. 8. Бактериостатическое действие культуральной Жидкости чайного гриба при инкубации в течение 24 ч и температуре 26—27 °С.**

Разведение: а — без разведения; б — 1:2; в — 1:5; г — 1:10, д — 1:25; е — контроль на МПА.

1 — *Bac. anthracis* 5470; 2 — *Bac. mycoides* 537; 3 — *Escherichia coli* 675; 4 — *Staph. aureus* 209; 5 — *S. typhi* subsp. *Breslau* 240; 6 — *S./sv. pullorum* 15; 7 — *S. e/tfer. Gartneri*; 8 — *S. SHftsp. paratyphi A=9/96*; 9 — *Sort, pyrocyaneum*; 10 — *Listerella monocitogenes*; 11 — *Streptococcus apis*.

Наиболее эффективным методом для определения фактических концентраций культуральной жидкости является микрометод, предложенный Флемингом и Смитом. Он основан на том, что микробы, ферментируя глюкозу, изменяют реакцию и цвет питательной среды, к которой добавлен в качестве индикатора феноловый красный. Было установлено, что бактериостатическая доза (0,1 мл, т.е. в разведении 1:50) культуральной жидкости улавливается указанным методом в разведениях 1:256 — 1:512, что соответствует дозе 0,0078—0,0038 мл нативной жидкости Чайного гриба, а с активностью 0,05 мл — 1:1024, т.е. 0,00094 мл. Мы считаем, что для определений минимальной подавляющей концентрации культуральной жидкости необходимо применять метод серийных разведений в 2 ЦМ.Щ, 2-Мл (микрометодом) с индикатором феноловым красным на средис рН 6,4-6,5.

Бактериостатическая активность культуральной жидкости чайного гриба

Ценным свойством культуральной жидкости чайного гриба является ее биологическая активность. Она обладает широким спектром антибактериального действия против ряда грамположительных и грамотрицательных бактерий, у которых чувствительность к данному препарату проявлялась в неодинаковой степени. Об этом свидетельствуют показатели определения последовательным разведением антибактериальной активности 40 различных видов микроорганизмов музейных штаммов и 22 свежесыводельных культур. Их изучали методом Флеминга на МПА и разведением на МПБ СО значением рН 6,6-6,81

Учет посевов производили через 16, 1#, 2% Ши 96\* ч. Результаты учета в указанные сроки были почти одинаковы: отсутствовал рост испытуемых культур.

Опыты, проведенные методом бороздки по Флемингу, ставили на 25 видах различных микроорганизмов. Посевы показали различие в зоне задержки роста исследуемых бактерий. Она колебалась в пределах от 10 до 30 мм. Бактериостатическая активность культуральной жидкости была особенно выражена в отношении бруцелл, возбудителей дизентерий и сальмонелл.

Разница в чувствительности микроорганизмов к культуральной жидкости чайного гриба наблюдалась и среди свежeweделенных штаммов кишечной палочки, протеуео-родобных бактерий и стрептококков, выделенных от здоровых и больных поносом телят и ягнят. От здоровых телят был выделен 21 штамм кишечной палочки, а от больных телят и ягнят — 34, среди которых 20 относились к кишечной палочке, 10 — к протеусоподобным бактериям и 4 — к стрептококкам. Степень чувствительности выделенных культур, выраженная в зоне задержки роста тест-культуры, колебалась от 7 до 13 мм. Из выделенных культур наиболее чувствительными к препарату оказались стрептококки. Разница чувствительности к препарату наблюдалась не только среди различных видов микроорганизмов, она отмечалась также среди свежeweделенных микроорганизмов одного и того же вида, хотя и не в резкой степени.

Не менее эффективны результаты определения бактериостатической активности, установленные методом разведений на жидких питательных средах. Культуральная жидкость задерживала развитие всех взятых в опыт 40 видов бактерий, причем по отношению к 4 видам оказывала действие в дозе 0,05 мл, т.е. в разведении 1:100, по отношению к 25 видам бактериальных культур — в дозе 0,1 мл (1:50), а к 8 культурам — в дозе 0,2 мл (1:25) и одной культуре — в дозе 0,3 мл (1:17) [30, 35, 42, 114] (табл. 2).

Результаты опытов показали, что испытанные бактерии, как музейные, так и выделенные от животных, прекращают свое развитие в разведениях культуральной жидкости чайного гриба 1:25 и 1:50. Проведенные исследования свидетельствуют о широком спектре антибактериального действия культуральной жидкости, оказывающей бактериостатическое действие как на грамположительные, так и на грамотрицательные микроорганизмы, в связи с чем мы ее назвали «бактерицидин». Следует отметить, что бактерицидин в дозе 0,4 мл в 5 мл МПБ (1:13,5) инактивирует действие бактериофага [61].

Бактерицидная активность культуральной жидкости чайного гриба — чайного гриба

Установив бесспорные факты наличия бактериостатической активности культуральной жидкости чайного гриба, мы поставили перед собой задачу выяснить ее бактерицидные свойства.

Опыты показали, что некоторые виды бактерий прекращали свою жизнедеятельность при дозе препарата 0,1 мл, т.е. при разведении 1:50, другие — при дозах 0,2 мл (1:25) и 0,3 мл (1:17), а споры таких микроорганизмов, как *Bac. subtilis*, *Bac. pumilus*, *Bac. anthracis* и др., переносили эти концентрации и давали рост на МПА, а вегетативная часть споровых культур не проявляла жизнедеятельности при указанных дозах. Бактерии погибали в разные сроки

экспозиции. Большинство неспорогенных бактерий погибало в течение от 10 мин до 2 ч. Споры бактерий и плесневых грибов, как правило, проявляли значительную устойчивость, но все же погибали при экспозиции от 1 до 4 сут. К таковым относились споры возбудителей сибирской язвы, почвенные спороносные бактерии, а из плесневых грибов — грибы рода *Penicillium*, *Aspergillus*, сем. *Mucor*, которые проявляют чувствительность в анаэробных условиях.

Бактерицидное действие культуральной жидкости было изучено и в отношении 21 штамма микроорганизмов, выделенных от здоровых телят, и 39 штаммов от больных телят и ягнят, 20 штаммов которых составляли кишечные палочки, 10 — протеусоподобные и 9 — стрептококки.

**Таблица 2. Бактериостатическое действие культуральной жидкости чайного гриба на МПБ при pH 6,6—6,8:**

Культура	Разведение культуральной жидкости				
	1:100	1:50	1:25	1:16	1:12
<i>Micrococcus</i> sp.	+	—	—	—	
<i>Streptococcus caseolyticus</i>			—		-
<i>Streptococcus cremoris</i>	+	—	+		
<i>Streptococcus pyogenes</i>	+	—		—	—
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+	-	—	—	—
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	+	—	+	—	—
<i>Sarcina maxima</i>	+	—	—	—	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+				—
<i>Serratia marcescens</i>	+		—		—
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	+	—	—	—	—
<i>Escherichia coli</i>		+	—	—	—
<i>Shigella flexneri</i>	+		—	—	-
<i>Shigella dysenteriae</i>	+				
<i>Proteus vulgaris</i>	+	—	—		—
<i>Salmonella</i> /sv. pullorum	+	—	-	—	—

Salmonella/sv. typhimurium	+	-	-	-	-
Salmonella sp. 471	+	-	-	-	-
Pasteurella multocida	+	-	-	-	-
Pasteurella avium	-	-	-	-	-
Erysipelothrix rhusiopathiae	-	-	-	-	-
Bacillus subtilis	+	+	-	-	-
Salmonella/sv. paratyphi B	+	-	-	-	-
Salmonella/sv. paratyphi A	+	-	-	-	-
Salmonella/sv. dublin	-	-	-	-	-
Salmonella/sv. gallinaram	+		-	-	-
Bacillus mycoides		+	+	-	-
Bacillus megaterium	+	-	-	-	-
Bacillus pumilus	+	-	-	-	-
Bacillus cereus	+	+	-	-	-
Bacillus anthracis	+		-	-	-
Brucella suis	+	-	-	-	-
Brucella melitensis	+	+	-	-	-

Salmonella/sv. abortusequi	+	+	-	-	-
Brucella abortus	+	-	-	-	-
Corynebacterium diphtheriae	+	+	-	-	-
Clostridium histolyticum	+	+	-	-	-
Clostridium novyi	- +	+	-	-	-
Clostridium botulinum	+	+	-	-	-
Clostridium tetani	+	-	-	-	-
Clostridium septicum	+		-	-	-

*Примечание: - нет роста культуры; + рост культуры.*

Бактерицидин во всех разведениях при экспозиции от 2 до 48 ч оказывал губительное действие на выделенные культуры. В контрольных пробирках всегда получали сплошной рост. Особенно чувствительны к препарату свежесыведенные стрептококки, которые погибали через 1 ч при экспозиции неразведенного чайного гриба.

Результаты проведенной работы указывают на широкий спектр биологической активности: культуральной жидкости чайного гриба, не только неразведенной, но и разведенной до 50—100 раз; действие последней проявляется несколько тоже (от 4 до 12 ч). Бактерицидин оказывает бактериостатическое и бактерицидное действие в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий и вполне оправдывает свое название.

## **Морфологические и физиологические изменения бактерий под воздействием чайного гриба**

Антибактериальное действие антибиотиков различно. Они неоднозначны по своему химическому составу, следовательно, и механизм их действия также может быть многообразным.

Возникла необходимость выяснить, чем обусловлено такое поражение бактериальной клетки? На какие ее биологические механизмы бактерицидин оказывает губительное действие? Для решения этих вопросов были проведены серии опытов, выясняющие влияние чайного гриба на морфологические и биохимические признаки некоторых бактерий.

### **Морфологические изменения бактерий**

Морфологические изменения кишечной палочки, стафилококков и сенной палочки (10 штаммов) изучали аосде однократного воздействия суббактериостатических, бакте-риостатических и бактерицидных доз чайного гриба в мазках, приготовленных из посевов на МПБ, через 3, 6, 9, 24 и 48 ч инкубации при температуре 37 °С. Прижизненные морфологические изменения бактерий изучались также после однократного и многократного воздействия препарата.

Установлено, что под воздействием суббактериостатических доз культуральной жидкости чайного гриба происходит набухание клеток, образование удлинённых и шаровидных форм, появление наряду с нормальными бесформенных масс с зернистыми включениями, а также вакуолизированных и почкующихся клеток. Кроме того, были обнаружены клетки с разорванными ^'язи^'ваи-ными оболочками, распадающиеся на зерна величиной с диаметр бактериальной клетки.

Выраженный полиморфизм установлен после 3-часо-вой экспозиции суббактериостатической дозы (0,675 мл); через 6 ч появились фрагменты распада структуры клеток. Продолжая экспозицию препарата в течение 52 ч, мы обнаружили следы лизированных удлинённых клеток в виде едва заметных очертаний. Длина этих клеток в 4—5 раз превышала длину нормальных; отдельные клетки бШй змеевидные, по длине в 20—50 раз больше обычных клеток. У таких клеток задерживается функция деления, теряется подвижность, они достигают гигантских размеров. Наряду с ними обнаруживались кокковые формы, почкующиеся палочки и нормальные клетки.

Особенно резким изменениям подвергаются микробы под влиянием бактериостатической дозы 0,1 мл, а бактерицидной 0,2 мл. Наблюдаются в основном дрожжеподоб-ные и сильно вздутые шаровидные формы, удлинённые формы бактерий с едва заметной стромой и бесформенные скопления, в которых большое количество интенсивно окрашенных зернистых включений.

При воздействии низких доз препарата (0,035 мл) морфологические изменения определялись позже — через 24 ч: появлялись удлинённые клетки. У микроорганизмов, приобретших некоторую устойчивость к препарату, полиморфизм от данной концентрации препарата проявляется в слабой степени.

Под воздействием последовательно возрастающих доз как разбавленной в Одой, так и чистой культуральной жидкости морфологические изменения микроорганизмов возникают от минимальных доз нативного препарата (0,02 мл в 2 мл среды, т.е. разведение 1:100). Отмечено, что исходная форма в течение 9 генераций у морфологически изменившихся палочковидных бактерий на обычных питательных средах не восстанавливается. Стафилококки почти достигают первоначальной формы, теряя характерное гроздьевидное расположение, наблюдается в основном единичное и парное расположение кокков. Для проверки чистоты измененных форм кишечной палочки производили пересев культуры на элективную среду Левина. Выросшие колонии имели характерные для кишечной палочки признаки: черные, с металлическим блеском. В мазках, приготовленных из этих колоний, обнаруживали нормальные клетки наряду с измененными формами кишечных палочек.

## Физиологические изменения бактерий

Морфологические изменения бактерий под воздействием чайного гриба сопровождаются некоторыми физиологическими переменами. Так, например, кишечные палочки, длительно находившиеся в контакте с препаратом, становились грамположительными. Это свойство сохранялось у последующих 6—7 популяций при пересевах на свежие питательные среды без препарата. Биохимические изменения выражались в потере способности образовывать кислоту при сбраживании мальтозы и лактозы. У других штаммов наблюдалось сбраживание этих углеводов, включая глюкозу и сахарозу, с образованием кислоты. По-видимому, культуральная жидкость чайного гриба не оказывает особого влияния на обменные процессы бактерий.

Под воздействием чайного гриба в дозах 0,05; 0,1 и 0,2 мл в течение 24 ч при температуре 37—38 °С наблюдается неспецифическая агглюцинация, которая обнаруживается на дне пробирки в виде выраженного венчика и просветления жидкости.

Особенно хорошо агглютинируются стафилококки и сенная палочка, давая крупнозернистый осадок. Аналогичное явление отмечено в отношении туберкулезных бактерий под воздействием препарата в дозе 0,1—0,6 мл при экспозиции в течение 2 ч и температуре 37 °С.

Пассажи́рование от 50 до 82 раз через обычный МПБ, содержащий последовательно увеличивающиеся или одну и ту же дозу чайного гриба, не повлияло на резистентность и биохимическую активность двух лабораторных штамма (*S./sv. typhimurium* и вакцинный штамм культуры сибирской язвы).

Отмечали изменение вирулентных свойств испытуемых бактерий в сторону их ослабления. Так, например, мыши (по 5 в каждом опыте), зараженные суточной бульонной культурой *S./sv. typhimurium*, пассажированной в присутствии препарата 42 раза, погибли от дозы 0,05 мл на 45 ч позже контрольных. От дозы 0,2 мл культуры, пассажированной 66 раз, мыши, кроме одной, погибли на 15 ч позже, а от дозы 0,1 мл остались живыми в течение 10 дней наблюдения.

То же наблюдали в отношении вирулентных свойств культуры *Bac. anthracis*, пассажированной 50 раз. Гибель мышей, зараженных этой культурой, задерживается от 6 до 20 ч в зависимости от дозы препарата.

Приведенные данные убеждают, что бактерицидин оказывает определенное воздействие на вирулентные свойства бактерий после их продолжительного контакта с препаратом.

Такое влияние культуральной жидкости чайного гриба на морфологические и физиологические особенности бактериальных клеток свидетельствует о многостороннем действии препарата на различные функции бактериальной клетки.

Влияние чайного гриба на дыхание бактерий

Влияние культуральной жидкости чайного гриба на окислительно-восстановительные процессы, происходящие в микробной клетке, изучали в

анаэробных условиях культивирования микробов в присутствии препарата, глюкозы и метиленового синего при температуре 37 °С. Определяли начало и конец полного обесцвечивания метиленового синего через каждые 5, 10, 15, 20 и 25 мин и т.д. в течение 5 ч и через сутки роста культуры.

В качестве тест-микробов были взяты *E. coli*, *Staph. epi-dermidis*, *Staph. saprophyticus*, *S./sv. typhimurium*, *Bac. anthracis*. Брали в опыт и тест-микробы, пассажированные в присутствии чайного гриба 66 раз *S./sv. typhimurium* и 50 раз — *Bac. anthracis*.

Оказалось, что при дозе 0,015 мл окислительно-восстановительная реакция *E. coli* не задерживается, а при дозе 0,03 мл и более она подавляется, т.е. не происходит обесцвечивания метиленового синего. У *Staph. epidermidis* окислительно-восстановительная реакция подавляется при дозе 0,015 мл в течение 25 мин, в то время как в контрольных пробирках начало редукции метиленового синего затягивалось — наступало лишь за период от 20 до 45 мин и длилось в течение 1 ч 40 мин.

Интенсивность окислительно-восстановительной реакции у бактерий, пассажированных на средах, содержащих возрастающие минимальные дозы чайного гриба, отличается от культур, не подвергшихся длительному воздействию препарата. Так, у *S./sv. typhimurium* редукция метиленового синего прекращалась при дозе препарата 0,03 мл (1:166) вследствие подавления их жизнедеятельности, а у культуры, бывшей в длительном контакте, подавлялась при более высокой дозе — 0,05 мл (1:100). Подобные результаты наблюдали и у *Bac. anthracis*. опыты показывают, что процесс дыхания у бактерий, бывших в контакте с препаратом, протекает интенсивнее, чем у бактерий, не бывших в контакте с ним.

Эти факты свидетельствуют, что бактерии, подвергшиеся длительному контакту с препаратом, приобретают некоторую резистентность по отношению к бактерицидину, которая возникает очень медленно и заканчивается в дальнейшем ее снижением и подавлением бактериальной клетки.

Выяснилось, что испытанные в анаэробных условиях дозы чайного гриба (0,03—0,05 мл) в аэробных условиях не оказывают бактерицидного действия на взятые в опыт тест-микробы. В анаэробных условиях препарат в этих дозах вызывает гибель микробной клетки, превышая показатели губительного действия в аэробных условиях в 2—3 раза. Следовательно, можно допустить, что культуральная жидкость чайного гриба сильнее проявляет свою антибактериальную активность в анаэробных условиях, чем в аэробных. Исследования показали, что бактерицидин оказывает общее воздействие на микробную клетку, в том числе на дегидрогеназу, так как в опытах отчетливо выражено угнетение окислительно-восстановительной реакции еще при жизнедеятельности микробной клетки. Это особенно выражено у культур *Bac. anthracis* и *S./sv. typhimurium*. В опытах со штаммами, бывшими в длительном контакте с препаратом, наблюдали лишь частичное обесцвечивание метиленового синего, т.е. частичное подавление дыхательных процессов вследствие некоторого «привыкания» бактерий к препарату и полное — при более высокой дозе препарата.

Таким образом, культуральная жидкость чайного гриба является многосторонне действующим препаратом, оказывающим губительное

Даниелян Л.Т. «Чайный гриб и его биологические особенности»

воздействие на микробную клетку вследствие подавления не только процесса дыхания микроорганизма, но и других функций микробной клетки.

## Влияние чайного гриба на дыхание бактерий

Влияние культуральной жидкости чайного гриба на окислительно-восстановительные процессы, происходящие в микробной клетке, изучали в анаэробных условиях культивирования микробов в присутствии препарата, глюкозы и метиленового синего [39] при температуре 37 °С. Определяли начало и конец полного обесцвечивания метиленового синего через каждые 5, 10, 15, 20 и 25 мин и т.д. в течение 5 ч и через сутки роста культуры.

В качестве тест-микробов были взяты *E. coli*, *Staph. epi-dermidis*, *Staph. saprophyticus*, *S./sv. typhimurium*, *Bac. anthracis*. Брали в опыт и тест-микробы, пассажированные в присутствии чайного гриба 66 раз *S./sv. typhimurium* и 50 раз — *Bac. anthracis*.

Оказалось, что при дозе 0,015 мл окислительно-восстановительная реакция *E. coli* не задерживается, а при дозе 0,03 мл и более она подавляется, т.е. не происходит обесцвечивания метиленового синего. У *Staph. epidermidis* окислительно-восстановительная реакция подавляется при дозе 0,015 мл в течение 25 мин, в то время как в контрольных пробирках начало редукции метиленового синего затягивалось — наступало лишь за период от 20 до 45 мин и длилось в течение 1 ч 40 мин.

Интенсивность окислительно-восстановительной реакции у бактерий, пассажированных на средах, содержащих возрастающие минимальные дозы чайного гриба, отличается от культур, не подвергшихся длительному воздействию препарата. Так, у *S./sv. typhimurium* редукция метиленового синего прекращалась при дозе препарата 0,03 мл (1:166) вследствие подавления их жизнедеятельности, а у культуры, бывшей в длительном контакте, подавлялась при более высокой дозе — 0,05 мл (1:100). Подобные результаты наблюдали и у *Bac. anthracis*. опыты показывают, что процесс дыхания у бактерий, бывших в контакте с препаратом, протекает интенсивнее, чем у бактерий, не бывших в контакте с ним.

Эти факты свидетельствуют, что бактерии, подвергшиеся длительному контакту с препаратом, приобретают некоторую резистентность по отношению к бактерицидину, которая возникает очень медленно и заканчивается в дальнейшем ее снижением и подавлением бактериальной клетки.

Выяснилось, что испытанные в анаэробных условиях дозы чайного гриба (0,03—0,05 мл) в аэробных условиях не оказывают бактерицидного действия на взятые в опыт тест-микробы. В анаэробных условиях препарат в этих дозах вызывает гибель микробной клетки, превышая показатели губительного действия в аэробных условиях в 2—3 раза. Следовательно, можно допустить, что культуральная жидкость чайного гриба сильнее проявляет свою антибактериальную активность в анаэробных условиях, чем в аэробных. Исследования показали, что бактерицидин оказывает общее воздействие на микробную клетку, в том числе на дегидрогеназу, так как в опытах отчетливо выражено угнетение окислительно-восстановительной реакции еще при жизнедеятельности микробной клетки. Это особенно выражено у культур *Bac. anthracis* и *S./sv. typhimurium*. В опытах со штаммами, бывшими в длительном контакте с препаратом, наблюдали лишь частичное обесцвечивание

## Даниелян Л.Т. «Чайный гриб и его биологические особенности»

метиленового синего, т.е. частичное подавление дыхательных процессов вследствие некоторого «привыкания» бактерий к препарату и полное — при более высокой дозе препарата.

Таким образом, культуральная жидкость чайного гриба является многосторонне действующим препаратом, оказывающим губительное воздействие на микробную клетку вследствие подавления не только процесса дыхания микроорганизма, но и других функций микробной клетки.

## **Влияние чайного гриба на антигенные свойства паратифозных бактерий**

Результаты исследований, рассмотренные нами в предыдущих разделах, показали, что под влиянием чайного гриба у бактерий возникают морфологические и некоторые физиологические изменения. Следовательно, возможно, подвергаются изменению и антигенные свойства бактерий в инфицированном организме.

Такую возможность можно было бы использовать при производстве вакцин и иммунных сывороток в терапии инфекционных заболеваний.

Данную проблему изучали на возбудителе *S./sv. dublin* и живой бруцеллезной вакцине штамма 19.

Были приготовлены 7 видов паратифозного антигена: живая (10 млрд) взвесь суточной культуры *S./sv. dublin*, убитая нагреванием, и 5 видов антигенов, обработанных различными разведениями чайного гриба с последующим его удалением и заменой изотоническим раствором хлорида натрия в том же объеме. Опыты проводили на 14 кроликах, на каждый антиген по два. Использовали бруцеллезную вакцину штамма 19 в чистом виде и обработанную разведенным и неразведенным бактерицидином.

Приготовленные паратифозные антигены вводили кроликам трехкратно в дозах 0,5; 1,0 и 1,5 мл подкожно через каждые 5 дней. На 7-й день иммуногенеза у всех 14 кроликов агглютинационный титр сыворотки крови достиг разведения 1:320. На 12-й день он был 1:2400 и 1:4000 у кроликов, иммунизированных антигеном, особенно обработанным неразведенным бактерицидином, в то время как у остальных агглютинационный титр повысился в пределах 1:400 — 1:2000. Наиболее низкий титр отмечали у кроликов, иммунизированных убитым антигеном, а у кроликов, иммунизированных живым необработанным антигеном, агглютинационный титр колебался от 1:600 до 1:2400.

Далее установили, что агглютинационный титр стал постоянно снижаться, причем у одних кроликов с 17-го дня, у других — с 22-го дня иммуногенеза. У большинства кроликов на 96-й день иммуногенеза титр антител резко снизился и составил 1:100—1:400, в то время как у кроликов, иммунизированных антигеном, обработанным разведенным бактерицидином, агглютинационный титр держался на высоком уровне (1:1280). У кроликов, иммунизированных живой необработанной вакциной, он был на уровне разведения 1:800 (у одного кролика), а у остальных — в разведении 1:100.

Исследования показали, что все антигены, обработанные бактерицидином, особенно неразведенным, оказались иммуногенными, т.е. бактерицидин не действует отрицательно на антигенные свойства бактерий, наоборот, стимулирует иммуногенез, усиливает иммунный ответ кроликов.

Аналогичные данные получены и при использовании бруцеллезной вакцины штамма 19, обработанной неразведенным препаратом (рис. 9, 10).

Изученные антигены, обработанные бактерицидином, фактически являются убитыми, так как посе́вы на специфические среды из всех антигенов, кроме контрольных, оказались стерильными, т.е. не давали роста на средах. Следовательно, вакцина, убитая бактерицидином, в иммуногенном отношении оказалась лучше убитой нагреванием и даже живой, возможно, вследствие корпуску-лирования антигена со свободными радикалами культуральной жидкости и образования частиц антигена, недоступных тканевым ферментам, и скорости вывода их из ткани, замедляя его гидролиз. Данные обоих исследований (паратифозного и бруцеллезного антигенов) вполне согласуются.

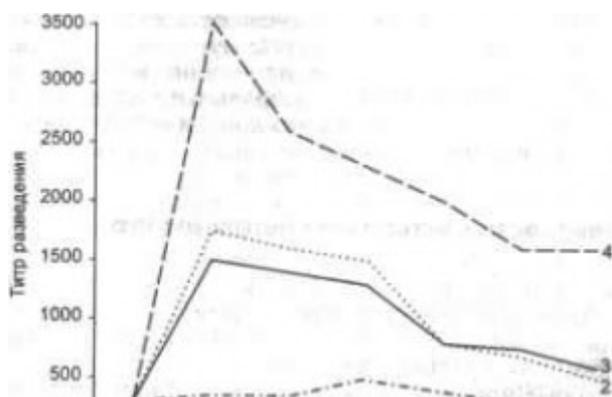
Выявленный нами факт заслуживает внимания как с экологической точки зрения, так и с научной. Известно, что живые вакцины в иммуногенном отношении вообще являются более эффективными, чем убитые. В нашем опыте оказалось наоборот: убитая бактерицидином вакцина активнее, чем живая, так как она в значительной степени повышает эти свойства по сравнению с живыми и убитыми нагреванием вакцинами в 2—10 раз.

Таким образом, бактерицидин в значительной степени повышает антигенные свойства испытуемых культур.

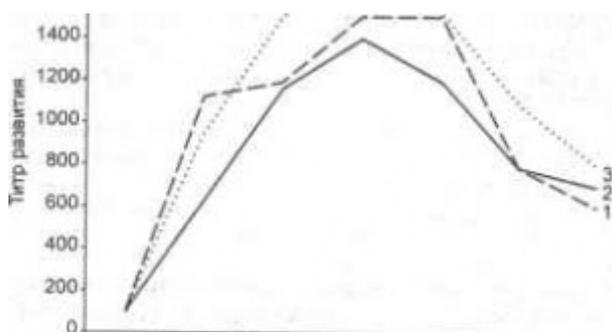
## Устойчивость бактерий к бактерицидину

В экспериментальной медицине известен факт возникновения лекарственно-устойчивых форм микроорганизмов, т.е. сохраняющих способность к размножению в присутствии терапевтических доз антибактериальных препаратов. Клиническое значение этого фактора огромно, так как это приводит к снижению эффективности антибиотикотерапии.

Отсюда очевидна необходимость знаний не только естественной чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, но и возможность возникновения устойчивых к ним форм в результате мутации. Исследования в этом направлении были проведены в отношении культур *E. coli*, выделенных от здоровых и больных телят и взрослого скота, а также музейных штаммов *Bac. subtilis*, *Bac. anthracis* и *S./sv. typhimurium*.



**Рис. 9.** Средний агглютинационный титр сыворотки крови кроликов, иммунизированных противопаратифозными антигенами. 1 — антиген, убитый нагреванием; 2 — антиген, обработанный неразведенным бактерицидином; 3 — живой антиген; 4 — антиген, обработанный разведенным бактерицидином.



**Рисунок 10.** Влияние чайного гриба на антигенные свойства бруцеллезной вакцины штамма 19.

1 — вакцина, обработанная чистым бактерицидином; 2 — контроль вакцины штамма 19; 3 — вакцина, обработанная разведенным бактерицидином.

Отсюда очевидна необходимость знаний не только естественной чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, но и

возможность возникновения устойчивых к ним форм в результате мутации. Исследования в этом направлении были проведены в отношении культур *E. coli*, выделенных от здоровых и больных телят и взрослого скота, а также музейных штаммов *Bac. subtilis*, *Bac. anthracis* и *S./sv. typhimurium*.

### **Резистентность бактерий в опытах *in vitro***

Использовали методику, основанную на пассажировании свежевыделенных бактерий через питательные среды, содержащие невысокие и постепенно возрастающие концентрации культуральной жидкости.

Некоторые штаммы *E. coli* были изучены путем отбора и селекции устойчивых колоний с последующим пересевом на МПБ, содержащий возрастающие дозы культуральной жидкости чайного гриба.

Работу начали с выяснения естественной чувствительности 22 штаммов *E. coli* к бактериостатическим и бактерицидным дозам препарата. Опыты показали, что выделенные штаммы *E. coli* обладают различной степенью чувствительности к бактериостатическим дозам препарата. Чувствительность испытуемых бактерий колебалась от 0,05 мл (1:100) до 0,2 мл (1:25) чайного гриба; среди указанных культур имелись штаммы с одинаковой степенью чувствительности, но их сравнительно мало.

Аналогичные результаты получили в отношении бактерицидных доз культуральной жидкости (чайного гриба), чувствительность которых колебалась от 0,075 мл (1:66) до 0,4 мл (1:12).

В процессе опытов выяснилось, что испытуемые культуры (*E. coli*) после 41 пассажа на средах, содержащих как постоянные суббактериостатические дозы, так и возрастающие, не приобретают способности привыкания к культуральной жидкости, а, наоборот, становятся в некоторой степени более чувствительными.

Исследования, проведенные в отношении проявления устойчивых форм *E. coli* к бактерицидным дозам, показали, что исследуемые штаммы кишечной палочки не приобретают резистентности к бактерицидному действию препарата. Наоборот, эти культуры при длительном контакте с культуральной жидкостью повышают свою чувствительность, и лишь некоторые штаммы кишечной палочки сохраняют прежнюю чувствительность или незначительно

повышают свою резистентность после 3—5 пассажей максимум в 1,2—5 раз. Резистентность отдельных штаммов нарастала после 3—5-кратного пассажа культур в средах, содержащих бактерицидин. Достигнутая резистентность у некоторых штаммов сохранялась на этом уровне до 15—22-го пассажа с последующей ее утерей, а у других штаммов снижалась или сохранялась их исходная устойчивость.

Такие колебания в степени устойчивости к препарату у различных штаммов не связаны с их исходной (естественной) резистентностью. Небольшая кратковременная адаптация может появиться и у более чувствительных бактерий, но они при этом приспособляются сравнительно труднее, чем резистентные штаммы.

Исследования показали, что такое незначительное повышение резистентности бактерий к культуральной жидкости с последующей ее потерей более выражено в отношении бактерицидных, чем бактериостатических, доз.

В опытах с отбором колоний и последующим 2—3-кратным контактом бактерий с минимальными дозами препарата удалось получить популяции, обладающие резистентностью, превышающей исходную в 4—5 раз, а в последующем снижающейся до первоначального.

Подобные результаты получены в отношении музейных культур *Staph. aureus* и *Staph. epidermidis*, которые ранее не были в контакте с бактерицидином.

Помимо описанных методов исследования, была поставлена серия опытов с разведенной культуральной жидкостью (1:10, 1:100 и 1:1000 в тех же дозах: 0,05; 0,0075 и 0,01 мл) в отношении штаммов *E. coli* 1, 4, 7, 8 и 11, *Staph. aureus* и *Staph. epidermidis*, которые также не подвергались адаптации при 20-кратном пассажировании через возрастающие дозы препарата.

Подобные опыты были проведены в отношении *Bac. anthracis* и *S. typhimurium*, которые пассажировали соответственно 50 и 82 раза. Нам не удалось повысить их резистентность в отношении культуральной жидкости чайного гриба: первоначальная резистентность их к препарату не изменилась. Таким образом, культуральная жидкость чайного гриба бактерицидин, являясь средством сложного состава, оказывает многостороннее воздействие на микробную клетку, вызывая глубокие нарушения метаболизма клетки, в силу чего затрудняется быстрая и легкая перестройка обмена веществ. Этим, очевидно, следует объяснить тот факт, что испытанные штаммы микроорганизмов с трудом приобретали небольшую устойчивость

к бактерицидину, теряли ее при дальнейшем контакте и даже становились более чувствительными к нему [32].

Полученные данные *in vitro* не дают оснований считать, что бактерицидин может оказать подобное действие также *in vivo*. Для выяснения этого был проведен ряд исследований.

### **Резистентность бактерий в опытах *in vivo***

Влияние чайного гриба на степень чувствительности микроорганизмов *in vivo* изучали на микрофлоре кишечника новорожденных ягнят (3 головы), получавших ежедневно один раз в сутки культуральную жидкость в возрастающих подекадно дозах: 5, 10, 15 мл в течение 30 дней, и овцематок (3 головы), получавших ежедневно в последней стадии беременности одноразовую дозу чайного гриба — 40 мл в течение 30 дней.

Чувствительность выделенных из кишечника животных палочковидных и коккоподобных микроорганизмов к культуральной жидкости чайного гриба определяли до и после дачи препарата.

Опыты показали, что микроорганизмы, выделенные из микрофлоры кишечника ягнят, получавших бактерицидин в возрастающих дозах, сохранили свою исходную чувствительность, т.е. не проявляли устойчивости к препарату.

Не удалось выделить устойчивых форм микроорганизмов также у овцематок и ягнят от них как в раннем периоде, так и в более отдаленные сроки, через 15 и 30 дней после рождения. Действие чайного гриба при многократном его приеме ограничивается лишь влиянием на количественное соотношение отдельных групп микроорганизмов кишечной микрофлоры, при котором отмечается уменьшение их общего количества наряду с увеличением молочно-кислых бактерий без нарушения видового состава кишечной микрофлоры [97, 118].

## **Чувствительность антибиотикоустойчивых микроорганизмов к бактерицидину**

Проблема антибиотикоустойчивости как фактора, снижающего эффективность терапии, имеет большое клиническое значение. При отсутствии положительного эффекта монотерапии клиницисты прибегают к сочетанию антибиотиков (комбинации двух или нескольких антибиотиков), которые могут оказать либо суммарное, либо синергидное (усиливают действие антибиотиков), либо антагонистическое действие. В последнем случае антибиотикотерапия может быть неэффективной.

Для выяснения влияния чайного гриба на антибиотикоустойчивые бактерии проведена серия опытов по изучению перекрестной устойчивости некоторых микроорганизмов в отношении чайного гриба и двух других антибиотиков широкого спектра действия — мономицина и тетрациклина.

В опытах были использованы следующие виды микроорганизмов: *E. coli*, *S./sv. typhimurium*, *Staph. aureus*, *Bac. subtilis*, *Bac. anthracis*, которые после пассажирования на средах, содержащих минимальные концентрации мономицина и тетрациклина, приобрели устойчивость к ним, превышающую исходную минимальную подавляющую концентрацию у мономицина от 134,4 до 32 766 раз, а у тетрациклина от 1,3 до 1102 раз.

Приобретшие устойчивость к испытываемым антибиотикам микроорганизмы проявляли чувствительность к бактерицидину в разведении 1:8, а *Staph. aureus* и *Bac. anthracis* — в разведении 1:16, являющимися минимальными подавляющими концентрациями чайного гриба [32, 41].

В опытах на ягнятах, получавших биомицин (30 дней), выделенные из кишечника биомицинустойчивые микроорганизмы были также чувствительны к бактерицидину.

Результаты исследований показали, что изучаемые бактерии, приобретшие устойчивость к мономицину, тетрациклину и биомицину, остаются чувствительны к бактерицидину.

## **Чувствительность антибиотико и хлораминорезистентных микроорганизмов к бактерицидину**

Профилактика инфекционных болезней все еще остается одной из наиболее серьезных проблем. Высокий уровень заболеваемости внутрибольничными инфекциями (ВБИ), вызываемыми патогенными и условно-патогенными микроорганизмами, сохраняется. Одной из причин поддержания ВБИ является резистентность возбудителей инфекционных заболеваний не только к антибиотикам, но и к некоторым дезинфицирующим средствам, что осложняет и снижает эффективность борьбы с ВБИ.

Поиски более совершенных средств, обладающих высокой биологической активностью, безусловно, являются чрезвычайно актуальными.

С этой позиции изучение бактерицидного действия биологически активного чайного гриба «Hongo» в отношении антибиотико- и хлораминорезистентных грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов представляет определенный интерес.

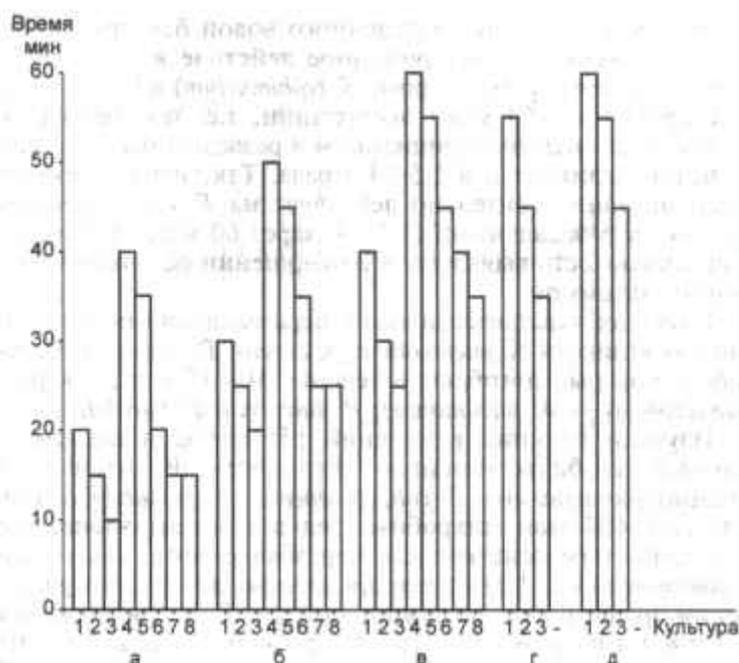
Исследования проводили в НИИ эпидемиологии, вирусологии и медицинской паразитологии им. Алексаняна (Ереван) в лаборатории дезинфекции и стерилизации, руководимой Р.Бабаян.

Бактерицидную активность чайного гриба, изучали методом обеззараживания батистовых тест-объектов, обсемененных микробной суспензией 8 штаммов грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. В 1 мл содержалось 100 тыс; 1 млн, 10 млн, 100 млн, 500 млн, 1 млрд и 2 млрд микробных клеток.

Бактерицидное действие препарата наблюдали в отношении эталонных штаммов *E. coli* 1257, *Staph. aureus* 906, *A', pneumoniae* 12. Из выделенных от больных хлорамино- и антибиотикорезистентных штаммов испытаны *S. typhimurium* 1474, *Yersinia enterocolitica* 33, *Shigella flexneri* 2a 5422, *Proteus vulgaris* 745, *P. mirabilis* 3669 при экспозиции от 5 до 60 мин, а также после 6- и 24-часовой экспозиции тест-объектов в бактерицидине. Определяли также влияние рН среды в диапазоне от 3,0 до 8,0 на активность препарата в отношении эталонных штаммов при экспозиции от 5 до 120 мин. ?

Результаты проведенных исследований позволили выявить высокую чувствительность полирезистентных бактерий к бактерицидину чайного гриба. Препарат оказывает бактерицидное действие на микроорганизмы, устойчивые к антибиотикам и хлорамину, независимо от плотности микробной суспензии и значения рН среды. При этом Отмечается лишь изменение срока экспозиции бактерицидного действия препарата.

Опыты показали, что к неразведенному бактерицидину при плотности суспензии 100 тыс., 1 млн и 10 млн микробных тел в 1 мл чувствительность бактерий проявляется при экспозиции от 10 до 60 мин, а при нагрузке 100 и 500 млн микробных тел бактерицидное действие препарата наблюдается в течение 35-60 мин экспозиции



**Рис. 11. Чувствительность хлорамино- и антибиотикорезистентных бактерий к неразведенному бактерицидину в зависимости от экспозиции и плотности микробной суспензии при pH 6,5.**

лишь у штаммов *E. coli*, *S. aureus* и *K. pneumoniae* (рис. 11). На рисунке видно, что с повышением Плотности микробной нагрузки удлиняется срок экспозиции. При нагрузке 100 тыс: микробных тел в 1 мл бактерицидное действие препарата Появляется от 10 до 40 мин, 1 млн — от 20 до 50 мин, 10 млн — от 25 до 60 мин, а при 100 и 500 млн погибают только *E. coli*, *S. aureus* и *K. pneumoniae*. Далее выяснилось, что препарат действует губительно и при микробной нагрузке 1—2 млрд, но в более поздние сроки экспозиции.: Всеисследуемые штаммы бактерий проявляют чувствительность к нативисту бактерицидину через 6—24 ч в зависимости от степени их плотности.

Изучение влияния разведенного водой чайного гриба (1:2) показало его бактерицидное действие в отношении всех микроорганизмов (кроме *S. typhimurium*) в более поздние сроки (45—60 мин) экспозиции, т.е. по сравнению с неразведенным бактерицидином в разведенном срок экспозиции удлиняется в 1,5—4,5 раза. Так, неразведенный бактерицидин губительно действует на *E. coli* в течение 20 мин, а разбавленный (1:2) — через 60 мин. Аналогичная зависимость выявлена и в отношении остальных изученных штаммов.

Наиболее чувствительными к неразбавленному бактерицидину являются *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *P. vulgaris* и *P. mirabilis*, которые погибают в течение 10—15 мин, а к разбавленному — *K. pneumoniae*, *P. vulgaris* и *P. mirabilis*.

Изучали влияние изменений pH среды в диапазоне 3,0—8,0 на бактерицидную активность. В отношении эталонных штаммов *S. typhimurium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* при нагрузке 100 тыс. микробных тел в 1 мл выявлено, что бактерицидное действие как неразбавленного, так и разбавленного (1:2; 1:5) препарата зависит от степени разведения препарата и значений pH среды. Так, при pH среды 3,0 и 8,0 и нагрузке 100 млн микробных тел *E. coli* в 1 мл срок экспозиции

неразведенного препарата составляет 30 и 35 мин соответственно. Действие разведенного (1:2 и 1:5) препарата проявляется в течение 70—90 мин при pH 3,0 и 120 мин при pH 8,0. При значениях pH 6,5 и 7,0 неразведенный бактерицидин оказывает бактерицидное действие на *E. coli* в течение 15 и 20 мин соответственно, а в разведениях 1:2 и 1:5 — 55 и 70 мин при pH 6,5 и 60—100 мин при pH 7,0 (рис. 12).

Аналогичное действие отмечено и в отношении культур *S. aureus* и *K. pneumoniae*. Лучше всего бактерицидное действие неразведенного и разведенного (1:2; 1:5) чайного гриба проявляется при значениях pH 6,5 и 7,0.

Таким образом, результаты исследований показали, что биологически активный стимулятор бактерицидин чайного гриба, независимо от плотности и значения pH среды оказывает выраженное бактерицидное действие в отношении антибиотико- и хлораминорезистентных грам-положительных и грамотрицательных микроорганизмов. При этом отмечается лишь изменение срока экспозиции бактерицидного действия препарата. Бактерицидин чайного гриба может быть применен в качестве эффективного средства для профилактики и лечения больных кишечными инфекциями, вызванными антибиотико- и хлораминоустойчивыми кишечными бактериями.

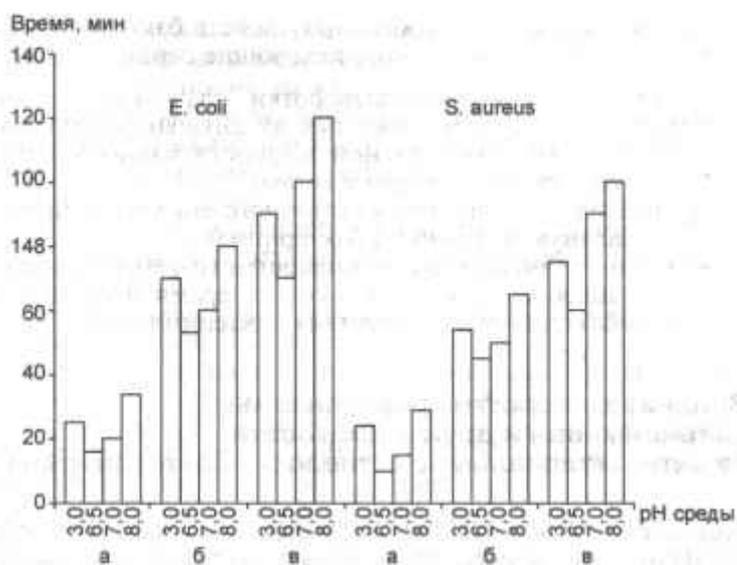


Рис. 12. Чувствительность хлорамино- и антибиотикорезистентных бактерий к бактерицидину чайного гриба с разными значениями pH среды. Плотность бактерий — 100 000 микробных тел. Разведение: а — без разведения; б — 1:2; в — 1:5.

## **Влияние биологических жидкостей на антибактериальную активность чайного гриба**

Многие антибиотики, как известно, вступают в связь с белковыми веществами организма, а некоторые из них даже разрушаются под воздействием желудочного сока (пенициллин и др.), снижая лечебный эффект препаратов. С практической точки зрения имеет значение изучение влияния биологических жидкостей на антибактериальную активность культуральной жидкости чайного гриба.

Для оценки антибактериальных свойств чайного гриба в организме были поставлены следующие серии опытов:

— определение влияния сыворотки, плазмы и цельной крови человека и животных на антибактериальную активность культуральной жидкости чайного гриба (чайного гриба) *in vitro* и *in vivo*;

— определение влияния желудочного сока на антибактериальную активность чайного гриба;

— влияние биологических жидкостей (цереброспинальная жидкость, гной, молоко) на время проявления антибактериального действия чайного гриба.

## **Влияние сыворотки крови, плазмы, цельной крови и других жидкостей на антибактериальную активность чайного гриба**

Влияние сыворотки крови человека, лошадей, крупного рогатого скота и овец на антибактериальную активность чайного гриба изучали в нативном и инактивированном (температура 56 °С, экспозиция 1—1,5 ч) виде, а цельной крови и плазмы — после добавления цитрата натрия.

Результаты исследования показали, что сыворотка крови, цельная кровь и плазма крови человека, крупного рогатого скота, лошади и овцы *in vitro* не снижают антибактериальную активность чайного гриба, они даже по сравнению с контролем повышают ее примерно в 1,5—2 раза. Аналогичные результаты получены в отношении смеси чайного гриба и цереброспинальной жидкости, биологическая активность которой также повышается.

Это, очевидно, объясняется тем, что биологические жидкости, как известно, сами обладают антибактериальным свойством и в смеси с изучаемым препаратом повышается (суммируется) их активность.

Бактерицидное действие культуральной жидкости чайного гриба (бактерицидин) в присутствии биологических жидкостей проявляется несколько позже. Так, если антибактериальная активность нативной жидкости чайного гриба, разведенного водой в соотношении 1:2, проявлялась в течение 30 мин, то в смеси с цереброспинальной жидкостью — через 2 ч, а с сывороткой крови — через 4 ч, в смеси с гноем и кровью — через 4—8 ч. Указанные биологические жидкости оказывают влияние лишь на время проявления антибактериального действия препарата.

Исследования показали, что бактерицидин не теряет своей активности и в организме, что подтверждается опытами, проведенными на животных.

В опытах *in vivo* исследования проводили на собаках и кроликах. Собакам однократно внутривенно вводили бактерицидин, упаренный десятикратно, в дозах 0,94 и 0,17 мл/кг, кроликам — в дозе 0,6 мл/кг. Затем проверяли биологическую активность крови микрометодом по Флемингу и Смиту в отношении *E. coli* и гемолитического стрептококка.

Антибактериальная активность крови до и после введения препарата в период от 20 мин до 24 ч колебалась в пределах разведения от 1:2 до 1:64 в зависимости от введенной дозы и срока пребывания препарата в крови.

Проведенные 5-кратные исследования свидетельствуют, что бактерицидин, попав в организм, не теряет своей активности. Препарат не вступает в комплексную связь с белками и другими веществами организма. Активность его постепенно снижается по мере выведения препарата из организма с мочой, что обнаруживается реактивом Флеминга и отсутствием его до введения животным чайного гриба.

## **Влияние желудочного сока на биологическую активность чайного гриба**

Влияние желудочного сока на биологическую активность чайного гриба изучали в отношении кишечной палочки, сальмонелл, золотистого стафилококка и сенной палочки. Одновременно определяли биологическую активность чистого препарата и натурального желудочного сока.

Результаты опытов показали, что бактериостатическая активность неразведенного чайного гриба в отношении испытываемых культур выражалась в дозе 0,1 мл (1:50), а натурального желудочного сока в зависимости от вида бактерий колебалась в пределах от 0,1 (1:50) до 0,5 мл (1:10). Бактериостатическая активность чайного гриба, разведенного желудочным соком в соотношении от 1:1 до 1:4, повышалась во всех разведениях. При разведении чайного гриба желудочным соком 1:1 сохраняется исходная биологическая активность (1:50), а в последующих разведениях (1:2; 1:3 и 1:4) соответственно повышается, достигая минимальных доз — 0,075 (1:66) и 0,05 мл (1:100).

Бактериостатическое действие смеси превышает антибактериальную активность чистого препарата в 5 раз и в 10 раз биологическую активность чистого желудочного сока. Кроме того, смесь бактерицидна с желудочным соком во всех разведениях оказывает бактерицидное действие на испытываемые культуры, в то время как чистый желудочный сок не обладает таким свойством (табл. 3). Аналогичные данные получены в отношении 8 штаммов кишечных палочек и 5 штаммов протеусоподобных бактерий, выделенных от больных и здоровых телят.

Бактерицидная активность смеси чайного гриба с желудочным соком в разведениях 1:0,5; 1:1; 1:2; 1:5 и 1:10 в отношении указанных культур проявляется при экспозиции 30 мин. В неразведенном бактерицидине она проявляется в течение 2 ч, а в разведенном изотоническом растворе хлорида натрия от 4 до 12 ч в зависимости от степени разведения. Бактерицидное действие желудочного сока, разведенного изотоническим раствором хлорида натрия в тех же концентрациях, проявляется только через 36-48 ч.

Данные проведенных исследований показали, что в значительной степени повышается не только антибактериальная активность смеси чайного гриба с желудочным соком, но и в сроки ее бактерицидного действия.

Такое повышение активности чайного гриба в присутствии желудочного сока, по-видимому, следует объяснить положительным влиянием его кислотности, активацией ферментов, собственной антибактериальной активностью и, возможно, действием каких-то других факторов на биологическую активность препарата.

**Таблица 3. Бактерицидное действие желудочного сока, чайного гриба и их смесей:**

Исследуемый препарат	<i>E. coli</i>	<i>S./sv. paratyphi B</i>	<i>S./sv. paratyphi A</i>
Бактерицидин	1:25	1:25	1:50
Желудочный сок	Рост	Рост	Рост
Смесь 1:1	1:33	1:41	1:33
Смесь 1:2	1:38	1:41	1:40
Смесь 1:3	1:41	1:50	1:41
Смесь 1:4	1:50	1:50	1:50

*Титр (в разведениях) в отношении*

В опытах был использован также желудочный сок теленка 15-дневного возраста, имеющего хроническую фистулу.

Результаты опытов показали, что нативный желудочный сок теленка в дозе 0,5 мл (1:10) не оказывает бак-териостатического действия, в то время как чистый бактерицидин подавляет рост взятых в опыт микроорганизмов в дозе 0,3 мл (1:17). Бактерицидин в смеси с желудочным соком теленка в отношении 1:0,5 вызывает задержку роста бактерий в дозе 0,4 мл (1:12), в соотношении 1:1 — в дозе 0,5 мл (1:10), а дальнейшее разведение не оказывает заметного действия. Таким образом, биологическая активность чайного гриба по мере разбавления желудочным соком теленка снижается. Это свидетельствует об отсутствии в желудочном соке кислоты и антибактериальной активности. Несмотря на это, указанные смеси во всех взятых соотношениях с желудочным соком оказывают бактерицидное действие на все 13 штаммов кишечной палочки и протеусоподобных микробов в течение 30 мин. Это свидетельствует о необходимости применения чайного гриба *per os* в дозе 150—200 мл для профилактики заболеваний телят в раннем возрасте [35, 45, 95].

## Влияние чайного гриба на организм

Наряду с изучением физико-химических и антибактериальных свойств нативной жидкости чайного гриба, названной бактерицидином, мы выясняем влияние ее на организм. Для этого проводили клинические, гематологические, фармакологические, патолого-анатомические и гистологические исследования.

### Клинические исследования

Общее действие чайного гриба на организм проверено экспериментально на мышах, морских свинках, кроликах, собаках, овцах и телятах. Препарат вводили в организм различными путями: энтерально, внутривенно, внутривентриально и подкожно.

Во всех опытах использовали бактерицидин в основном со значением рН 2,7—3,2, титруемой кислотностью 150—200 °Т, бактериостатической активностью 16—32 ед. разведения и выше в отношении эталонного штамма *E. coli* 113. Подопытных животных обследовали до введения чайного гриба и после; учитывали общее состояние животных, состояние кишечного тракта, привес, изменение работы сердца и дыхания. ч д Энтерально люди и животные получали бактерицидин в следующих дозах:

#### Однократно:

- кролики – 10, 20 и 30 мл;
- собаки – 10, 20, 30, 40, 50, 100 и 250 мл;
- ягнята — 5, 10, 15, 20, 30 мл;
- овцы — 15, 20, 40 и 50 мл;
- телята – 50, 100, 300 и 500 мл;
- цыплята – 0,05; 0,1; 0,15 мл; 0,2; 0,3 и 0,4 мл; 0,6 и 0,8 мл;
- куры – 0,15; 0,2; 0,3; 0,4; 6,0 и 8,0 мл; дети — 10, 15, 20, 25, 40, 50, 60 мл (в зависимости от возраста);
- взрослые люди — 25, 50, 100, 400 и 500 мл.

#### Многократно:

- кролики — по 10 мл 2 раза в сутки в течение 3 дней; 20 мл один раз в сутки в течение 5 дней;
- ягнята — 5, 10, 15 мл с подекадно увеличиваемой дозой и по 15 мл однократно в сутки в течение 30 дней;
- овцы — 40 мл один раз в сутки в течение 30 дней;

- телята — по 100 мл 3 раза в сутки в течение 3 дней; 300 мл один раз в сутки в течение 3 дней;
- цыплята – 0,025; 0,05; 0,07; 0,1; 0,15 мл; 0,2; 0,25; 0,3 мл с подекадно увеличиваемой дозой (с кормом и *per os*) одно- и двукратно в сутки в течение 30 дней; по 0,4; 0,6 мл в течение 20 дней; по 0,8 мл в течение 15 дней с последующим двукратным снижением дозы через каждые 7 дней; 0,8 мл каждые 5 дней;
- куры — по 0,3 мл в течение 15 дней с кормом; по 6 и 8 мл в течение 10 дней и 3 дней;
- дети — по 10, 15, 20, 25, 40, 50, 60 мл 4—6 раз в день в течение 6—7 дней и более;
- взрослые люди — по 25, 30, 50, 100 мл 2—3 и 4 раза в день в течение 5—7 дней и однократно в течение 20—30 дней и более с различными интервалами.

Результаты исследования показали, что после однократной дачи различных доз чайного гриба, вплоть до дозы 500 мл внутрь, каких-либо клинических изменений в состоянии животных не наблюдали. Подопытные животные вели себя спокойно, отклонений со стороны сердца, дыхания, температуры тела и желудочно-кишечного тракта не отмечалось, за исключением одной собаки, у которой после дачи 100 мл (6,6 мл/кг) чайного гриба через фистулу сейчас же была рвота. Рвоты не было после дачи препарата в дозе 50 мл (3,3 мг/кг). По-видимому, это индивидуальная реакция организма, так как в другом случае собака, принявшая 250 мл чайного гриба, не проявила никакой реакции на препарат.

Бактерицидин в дозах от 100 до 400 мл при даче внутрь в один прием не оказывал влияния на состояние организма человека. Нами, а также больными, страдающими расстройством кишечника различного происхождения, констатирована безвредность чайного гриба; прием его внутрь переносился без каких-либо вредных последствий. Наконец, с давних времен в быту население широко, без ограничения, применяет культуральную жидкость 5—7-дневного роста чайного гриба без каких-либо субъективных жалоб. Для выяснения проявления возможной «хронической» токсичности бактерицидин давали животным ежедневно однократно и многократно — от 3 до 6 раз в сутки с кормом и непосредственно внутрь в течение различных сроков и с разными интервалами. Так, в течение 30 дней двукратно с 6-часовым перерывом, 5—7 дней — по 3 и 6 раз в сутки с 2-часовым интервалом.

Во всех случаях не отмечали каких-либо особых клинических изменений у животных и птиц как в период наблюдения, так и в отдаленные сроки после дачи препарата внутрь. Было отмечено лишь некоторое влияние на массу щц. животного в зависимости от дозы, кратности и длительности приема препарата [19, 32, 35, 53, 86, 87, 133].

**Гистологическая картина паренхиматозных органов животных после применения чайного гриба**

Изучали влияние чайного гриба на паренхиматозные органы различных животных (морские свинки, кролики и собаки). Препарат вводили парентерально и энтерально.

Нативный бактерицидин и разведенный в соотношении 1:5; 1:10 и 1:20 вводили кроликам в краевую ушную вену 13 раз в дозе 1 мл/кг с однодневным интервалом, а морским свинкам — в сердце 7 раз в дозе 0,2 мл с двухдневным интервалом. Гистологические исследования не выявили заметных изменений во внутренних органах (сердце, легкие, печень, почки, селезенка). Отмечено появление флебита и парафлебита с последующим сухим некрозом на месте введения нативного препарата вследствие кислотности\*'

В опатах на 12 собаках Изучали клиническую картину. Этим собакам двукратно внутривенно вводили бактерицидин с рН 2,75 в дозах 0,1; 0,2; 0,3 на 1 кг массы тела животного.

Исследование показало, что бактерицидин в дозе 0,1 мл/кг не вызывал каких-либо морфологических и микроскопических изменений. При дозе 0,3 мл/кг в печени по ходу внутридольковых капилляров определялось лишь некоторое набухание звездчатых ретикулоэндотелиоцитов (клеток Купфера) в виде утолщенных вытянутых форм; во всех исследуемых органах отмечалась слабая инъеция эритроцитов и, наконец, наличие некоторого количества эритроцитов в большинстве почечных клубочков.

Перечисленные изменения незначительны и не указывают на структурные изменения органов под воздействием чайного гриба. Они указывают лишь на некоторое раздражение мезенхимных элементов. Такая перестройка, по-видимому, несколько повышает иммуногенную способность организма. При дозе 0,5 мл/кг отмечали изменения в каждом исследованном органе; обнаруживали дегенеративные изменения элементов паренхимы в виде зернистого перерождения и атрофии ее клеток.

В печени выявлены лимфоидные инфильтраты внутри долек и вокруг кровеносных сосудов, увеличение в объеме и округление звездчатых ретикулоэндотелиоцитов (клеток Купфера), появление глыбок желтого пигмента, в отношении которого эти клетки не проявляют фагоцитоза, по-видимому, вследствие состояния угнетения.

В почечных клетках — пылевидная зернистость без глубоких изменений клеток. Кровеносные капилляры, особенно мозгового слоя, сильно загружены эритроцитами, а крупные сосуды налиты кровью, очевидно, вследствие развивающихся застойных явлений. Одни клубочки увеличены в объеме, другие в состоянии атрофии.

Клетки мочевых канальцев набухшие, протоплазма их зернистая, границы не заметны и глубоко вдаются в просвет канальцев, обуславливая местами их облитерацию. В почках эти процессы дегенеративного порядка в комплексе могут быть охарактеризованы как нефроз органа.

В сердце кое-где мелкие лимфоидные инфильтраты между мышечными волокнами, в остальном без изменений [89].

Анализ этих процессов показывает, что бактерицидин в дозе 0,5 мл/кг в организме собаки вызывает некоторую тканевую реакцию, выражающуюся в дегенеративных изменениях элементов паренхимы в форме скопления лимфоидных клеток, а также набухания клеток Купфера. Однако весь комплекс этих процессов протекает на фоне нормального состояния организма, без резких отклонений его защитных средств, в частности элементов мезенхимы [89].

По данным К. Шахбазян [132], у животных, получавших внутривенно непереносимые дозы чайного гриба (4 мл/кг для морских свинок и 7 мл/кг для кроликов), наблюдали кровоизлияние в легочной ткани, увеличение сердца и дряблость его мышц, полнокровие печени и почек, дряблость и слабое увеличение их в объеме. Под капсулой — точечное кровоизлияние. Пристеночные грудные, брюшные и брыжеечные сосуды налиты венозной кровью. Остальные органы без видимых изменений.

При гистологическом исследовании внутренних органов (сердце, легкие, печень, почки и селезенка) обнаруживали дистрофические изменения: набухание и зернистое перерождение клеток печени, мутное набухание клеток печеночных канальцев. В сердце — зернистое перерождение мышечных волокон с частичным нарушением их поперечнополосатой исчерченности и образованием мелких лимфоидных инфильтратов. В селезенке наблюдали гиперплазию фолликулов с преобладанием ретикулярных элементов над эритроцитами, что указывает на активацию элементов мезенхимы.

В легких выявлена эозинофилия; бронхи заполнены светло-розовой массой, состоящей из полиморфно-ядерных лейкоцитов, лимфоцитов, эозинофилов и слущенных клеток бронхиального эпителия. Перегородки альвеол утолщены, что обусловлено расширением кровеносных капилляров.

Кроликам вводили нейтрализованный бактерицидин также в абсолютно смертельной дозе. Результаты опытов показали, что кролики переносят инъекцию нейтрального чайного гриба без каких-либо отклонений от нормы, что явно указывает на причину смерти от высокой кислотности (рН 2,75).

Данные гистологического исследования позволили установить свойство чайного гриба в зависимости от дозы оказывать на организм слабораздражающее (стимулирующее) или несколько угнетающее действие независимо от метода его введения в организм.

Таким образом, очевидно токсическое действие чайного гриба при интравенозном введении высоких доз. Бактерицидин в более низких дозах, а также при подкожном и внутримышечном введении такого действия не оказывает. Энтеральное его применение, как отмечено, также не оказывает токсического действия на организм.

## **Влияние чайного гриба на первичную культуру клеток из почек новорожденных крольчат**

Исследования проводили на культуре клеток ткани из почек новорожденных 5-дневных крольчат. На поверхность ткани наносили 2 мл чайного гриба неразведенного и разведенного десятикратно от  $10^{-1}$  до  $10^{-8}$  со средой Хенкса. Результаты опытов учитывали через 24 ч после 30-минутного контакта клеток с препаратом и последующей его заменой свежей средой Хенкса.

Опыты показали, что под воздействием чистого (неразведенного) чайного гриба клетки сморщиваются. Не-разведенный препарат, как видно, вызывает коагуляцию белка вследствие его высокой кислотности (рН 2,8—3,0). Разведенный средой Хенкса бактерицидин в указанных концентрациях не оказывает отрицательного действия на клетки.

Аналогичные исследования были проведены с кристаллическим бактерицидином КМ, выделенным из культуральной жидкости чайного гриба. На культуру клеток почек крольчат воздействовали кристаллическим препаратом КМ в разведениях на среде Хенкса от  $10^{-2}$  до  $10^{-7}$  при экспозициях 24, 48, 72 и 96 ч. Контролем являлась культура клеток со средой Хенкса.

Результаты исследований показали, что кристаллический препарат КМ при экспозиции 24 и 48 ч вызывает разрушение клеток в разведениях от  $10^{-2}$  до  $10^{-4}$  и незначительно в разведениях  $10^{-5}$  и  $10^{-6}$ . При удлинении срока экспозиции (72 и 96 ч) наблюдали разрушение клеток почек крольчат во всех испытываемых разведениях (от  $10^{-2}$  до  $10^{-7}$ ); цитопатическое действие чайного гриба не отмечено в разведении  $10^{-7}$ .

Полученные данные наводят на мысль о возможном подобном воздействии кристаллического препарата КМ на опухолевые клетки.

## Влияние чайного гриба на картину крови

Опыты проводили на различных видах животных: 6 овцах, 5 телятах и 9 собаках.

Картину крови оценивали в течение нескольких дней после введения чайного гриба в разных дозах: через 15, 30, 45 мин, 1, 2, 24 и 48 ч у овец, а у собак и телят через 15 мин, 2 и 24 ч.

Опыты на овцах проводили в 3 сериях, в каждой на двух овцах. Чайный гриб вводили разными путями: подкожно 20 мл (0,52—0,65 мл/кг), внутривенно 10 мл (0,27—0,31 мл/кг) и per os 50 мл (1,4—1,5 мл/кг).

Данные опытов показали, что чайный гриб в указанных дозах при введении внутрь может вызвать незначительное повышение вязкости крови, кратковременное увеличение содержания гемоглобина, увеличение цветового показателя, некоторое уменьшение содержания резервной щелочи. Кроме того, он способствует нейтрофилии и лейкоцитозу, причем все эти показатели через 24 ч восстанавливаются до нормы. У одной овцы через 15 мин после подкожного введения наблюдалось повышение СОЭ, а через 24 ч несколько ускорилась свертываемость крови.

Двум овцам чайный гриб вводили внутривенно в дозе 10 мл (0,27—0,31 мл/кг). После введения наблюдали снижение количества эритроцитов и содержания гемоглобина, увеличение цветового показателя, ускорение свертываемости крови, усиление вязкости; отмечалась нейтрофилия со сдвигом ядра влево за счет палочкоядерных и юных. До нормы показатели восстановились через 24 ч. Резервная щелочность, как показали опыты, снижается с последующим восстановлением до нормы в течение 30—60 мин. У одной овцы обнаружили дегенеративные формы сегментоядерных нейтрофилов и включения в лейкоцитах.

Однократное введение чайного гриба овцам по 50 мл (1,4—1,5 мл/кг) внутрь не вызывало изменений, выходящих за пределы нормы [62].

В опытах на телятах после энтерального однократного введения 100 мл чайного гриба изменений в крови не отмечали.

Некоторые изменения наблюдали при однократной даче чайного гриба внутрь в дозе 300 мл (7 мл/кг) и по 100 мл 3 раза в день в течение 3 дней. Выявили уменьшение количества эритроцитов и увеличение количества лейкоцитов; содержание гемоглобина было без особых изменений, что указывает на насыщенность эритроцитов гемоглобином.

В лейкоцитарной формуле отмечались некоторое повышение процентного соотношения лимфоцитов и сдвиг влево до палочкоядерных нейтрофилов. Число палочко-ядерных нейтрофилов, эозинофилов и моноцитов было повышено, а количество сегментоядерных понижено. Такое изменение рассматривается как регенеративное раздражение кроветворных органов. Сдвиг влево до ядерных форм с одновременным лейкоцитозом свидетельствует о раздражении костного мозга, а увеличение количества лимфоцитов и моноцитов при лейкоцитозе и

эритропении — о раздражении ретикулоэндотелиальной (мононуклеарной) системы (РЭС). СОЭ и показатели резервной щелочности крови после дачи препарата особых изменений не претерпели.

По результатам проведенных опытов можно заключить, что бактерицидин в дозе 300 мл однократно и по 100 мл 3 раза в день в течение 3 дней *per os* действует умеренно раздражающее на кроветворные органы, в том числе на РЭС, особенно лимфоидную (табл. 4).

Известно, что при ацидозе (введение уксусной и молочной кислот, вдыхание CO<sub>2</sub>) наблюдаются лимфопения, нейтрофилия, а при алкалозе (введение соды, вдыхание аммиака) — лимфоцитоз, нейтропения. Бактерицидин, имея кислую реакцию, оказывает противоположное действие, т.е. вызывает лимфоцитоз вместо лимфопении. Эти данные указывают, что на картину крови действуют не только кислоты, входящие в состав чайного гриба, но и другие вещества, имеющиеся в культуральной жидкости чайного гриба.

Сильно раздражающее действие на кроветворные органы наблюдается при даче препарата внутрь в дозе 300 мл (7 мл/кг) 3 раза в день в течение 3 дней. При этом отмечали сдвиг лейкоцитарной формулы влево до юных нейтрофилов с одновременным небольшим снижением количества лейкоцитов и увеличением содержания эритроцитов без изменения цветового показателя. Наблюдали также кратковременное снижение щелочного резерва крови.

**Таблица 4. Лейкоцитарная формула крови телят при введении чайного гриба внутрь в дозе по 100 мл 3 раза в сутки в течение 3 дней (в процентах)**

Время исследования	з # о 8 и3	Эозинофилы	Нейтрофилы				Лимфоциты	Моноциты
			миелоциты	юные	палочкоядерные	сегментоядерные		
До введения препарата	—	1	• — / •	0,5	4	22,5	68	4
После введения препарата через:								
2 ч	—	1	—	0,5	6	19	69	4,5
8ч	—	1,5	—	0,5	7	16	70	5
24 ч	—	1,5	—	0,5	6,5	16	71	4,5
48 ч	—	2	' —	1	7	15	70,5	4,5
72 ч	—	2`	—	«1	8,5	14,5	70	4
96 ч	—	1,5	—	1	8,5	13,5	71	4,5
120 ч	—	0,5	—	0,5	4,5	21,5	69	4

Угнетающим образом на кроветворные органы действует однократная повышенная доза препарата 500 мл, несмотря на то что клинических изменений при этом не наблюдается. Отмечаются увеличение количества эритроцитов и уменьшение содержания лейкоцитов. Повышается уровень гемоглобина, а цветовой показатель незначительно понижается, что указывает на ненасыщенность эритроцитов гемоглобином. Эти изменения наблюдаются спустя 6 ч после дачи препарата; показатели возвращаются к норме через 72 ч. При дробной даче этой дозы препарат не оказывает угнетающего действия.

После дачи повышенных доз препарата в лейкоцитарной формуле понижается процентное соотношение лимфоцитов, эозинофилов, моноцитов, выявляется сдвиг влево до юных нейтрофилов, что указывает на угнетение кроветворных органов. Об этом свидетельствует лейкопения с одновременной нейтропенией.

Из результатов опытов видно, что под влиянием больших доз чайного гриба происходит угнетение кроветворных органов. Однако изменения, появляющиеся при разовой даче препарата внутрь в больших дозах (500 мл), не наблюдаются при многократном его использовании в меньших дозах (по 100 мл 3—4 раза в сутки в течение 3 дней), при этом бактерицидин оказывает умеренное раздражающее действие на кроветворные органы. Исходя из этого, можно предположить, что препарат не обладает кумулятивным свойством. Все дозы препарата можно рассматривать как вполне переносимые, а возникшие в картине крови телят некоторые изменения находятся в пределах нормы [96].

Аналогичные гематологические исследования были проведены на собаках, им препарат вводили внутривенно двукратно. Изучали влияние чайного гриба на картину крови в возрастающих дозах: 0,1—0,3 и 0,5 мл/кг. При введении дозы 0,1 мл/кг изменения в крови полностью соответствовали физиологической норме. Доза 0,1 мл/кг является вполне переносимой, ее можно считать минимальной для собаки [86].

Введение чайного гриба в дозе 0,2—0,3 мл/кг не сопровождается клиническими изменениями, но несколько изменяет картину крови. Отмечается резкое снижение числа эритроцитов и содержания гемоглобина, увеличиваются цветовой показатель в первые 15 мин после введения препарата и количество лейкоцитов. Эти показатели крови постепенно восстанавливаются до исходного состояния.

Для лейкоцитарной формулы (табл. 5) характерны лимфоцитоз, моноцитоз и эозинофилия, снижение числа сегментоядерных нейтрофилов, т.е. сдвиг влево до палочко-ядерных и частично юных.

Наличие эритропении и лейкоцитов свидетельствует о раздражающем влиянии чайного гриба на РЭС. Эти данные подтверждаются патолого-гистологическими исследованиями органов собак [89]. Подобное изменение лейкоцитарной формулы, как отмечалось, является признаком раздражения костного мозга. Увеличение количества эозинофилов и моноцитов указывает на раздражение РЭС. Введение препарата в дозе 0,5 мл/кг наряду с некоторыми клиническими явлениями изменяет картину крови. Отмечается увеличение числа эритроцитов в 1 мл крови и содержания гемоглобина, часто сопровождаемое уменьшением цветового показателя, что указывает на ненасыщенность эритроцитов гемоглобином. В течение 2 ч развивается лейкопения, которая проходит в последующие 24 ч.

Таблица 5.

До введения		6	■ ■ —	0,5	8,5	61,0	19,0	5,0
После введения								
через:								
15 мин	—	4,5	—	—	11	54,5	22,5	7,5 8,5
2 ч		9,5	—		9,5	47,5	25	
24 ч		6,5	—		12	52,5	24,5	4,5
Слепой, 1,5 года, масса тела 8 кг, введено 2,4 мл препарата								
До введения	—	0,5	—	—	7,5	64	19,5	4,0
После введения								
через:								
15 мин	—	5	—	—	15,5	51	21,5	7,0
2ч	—	6,5	—	1.0	13	45,5	24,5	9,5
24 ч	:—	8,0		—	5,5	54	26,5	6,0

В лейкоцитарной формуле при дозе 0,5 мл/кг отмечаются сдвиг влево до юных нейтрофилов, уменьшение количества эозинофилов, моноцитов и лимфоцитов (эози-нопения, моноцитопения и лимфопения). У 2 собак обнаружены клетки Тюрка, указывающие на токсическое влияние препарата на клетки РЭС. Эти данные подтверждены результатами патолого-гистологического исследования: в паренхиматозных органах собаки определялось резкое подавление фагоцитарной функции, т.е. однократная доза 0,5 мл/кг действует угнетающе на РЭС [86].

Из проведенных опытов видно, что бактерицидин в зависимости от дозы может оказывать либо стимулирующее, либо угнетающее действие на РЭС. Дозы особых отклонений в показателях крови не вызывали, следовательно, они являются клинически переносимыми.

Токсические свойства чайного гриба проявляются лишь при парентеральном введении повышенных доз, особенно внутривенно из-за высокой кислотности. Эти же дозы препарата при подкожном и внутримышечном введении переносятся хорошо. При многократном внутримышечном и подкожном введении бактерицидин может вызвать местные реакции. Эти реакции можно предупредить, сочетая его с 1 % раствором новокаина или введением малых доз. Следовательно, для терапевтической цели введение чайного гриба парентерально в оптимальных дозах допустимо. Бактерицидин при энтеральном применении как диетический и антибактериальный препарат для терапевтических целей абсолютно безвреден. Об этом свидетельствуют опыты о влиянии чайного гриба с биологической активностью 64 ед. разведения на картину красной крови

цыплят. Начиная с 1-дневного возраста цыплята получали препарат в следующих нисходящих суточных дозах: 1-я группа по 0,4—0,2—0,1 мл; 2-я — по 0,6—0,3—0,15 мл, при этом дозу снижали через каждые 7 дней. В 3-й группе цыплятам давали по 0,8—0,4—0,2 мл, через каждые 5 дней снижая дозу. Контрольная группа получала раствор перманганата калия (1:3000) в течение 3 дней.

Опыты показали, что чайный гриб оказывает умеренно раздражающее действие на костный мозг цыплят, повышая их физиологический статус в различной степени в зависимости от дозы препарата. Малые дозы чайного гриба оказывают слабое стимулирующее действие: содержание гемоглобина повышается в пределах 5,4—18,3 %, количество эритроцитов — на 6,6—16,4 %.

Чайный гриб в высоких дозах в период дачи и в ранний период после прекращения введения препарата действовал угнетающе. В более отдаленные сроки содержание гемоглобина и количество эритроцитов превышало эти показатели в контрольной группе и составляло 16,1—19,2 % и 8,6—18,8 % соответственно.

Оптимальной оказалась средняя доза чайного гриба (0,6—0,3—0,15 мл), при которой наряду с повышением содержания гемоглобина увеличивалось и количество эритроцитов, превышая показатели в контрольной группе соответственно на 9,1—34,4 % и 17,6—31,4 %. При этом наблюдались высокая сохранность и интенсивное накопление живой массы цыплят, особенно в ранние сроки их жизни (60-дневный возраст).

Цветовой показатель во всех группах был нормохромным. В подопытных группах, начиная с 30-го дня после прекращения дачи чайного гриба, этот показатель был выше, чем в контрольной группе, что указывает на улучшение оксигенации эритроцитов у цыплят, получавших бактерицидин.

## Влияние чайного гриба на ретикулоэндотелиальную (мононуклеарную) систему

Влияние чайного гриба на поглотительную (фагоцитарную) способность РЭС изучали методом Адлера и Рейма-на, модифицированного проф. С.Ш. Саканяном. Методика основана на учете степени поглощения клетками РЭС внутривенно введенного конго красного, что является, по данным автора, весьма чувствительным показателем поглотительной способности РЭС.

Насыщенность окраски конго красным, или конгорот-индекс, определяется по процентному соотношению интенсивности окрашивания первой и остальных порций крови колориметрически. Небольшие значения конгорот-индекса указывают на стимуляцию поглотительной способности РЭС, а большой — об угнетении этой системы.

Опыты проводили на собаках (21), которым внутривенно однократно вводили бактерицидин (рН 2,75) одновременно в дозах 0,1; 0,2; 0,3 и 0,5 мл/кг. Через 15 мин вводили раствор конго красного, затем через 4, 15, 30, 45 и 60 мин определяли конгорот-индекс колориметром МИ-1 [132].

Результаты опытов показали, что стимуляция РЭС под действием чайного гриба в большинстве случаев сопровождается закономерным уменьшением количества эритроцитов и увеличением количества лейкоцитов в 1 мл крови.

Для выяснения влияния комплекса кислот и величины рН на РЭС были поставлены опыты с нейтрализованным чайным грибом в дозе 0,3 мл. Выяснили, что при нейтрализации стимулирующее действие чайного гриба снижается, конгорот-индекс составляет от —8,63 до —9,32 %, свидетельствуя о том, что в препарате, кроме органических кислот, имеются другие компоненты, оказывающие стимулирующее влияние на РЭС.

Ста- дия опыта, мин	0,1 мл/кг			0,3 мл/кг			0,5 мл/кг		
	Аслан	рик	Алла	Рекс	Араб	Белка	Берта	Трок	Сильва
К* 4	0	0	0 0	. 0	д	., 0	0	0	.*-0
15. 30 45	-4,77 0	-4,77 0	-6,96	-20,83	-9,10 -7,57	-11,90 -16,36	+15,52 +23,68	+25,93 +29,81	+4,33 +10,03
60	-5,14 -1,90	-3,62 -2,85	-3,08 0	-31,47 -26,04 -13,07	-8,82 -12,12	-10,89 -14,05	+14,51 +22,50	+ 17,65 +13,09	+26,92 +14,89

К\* — введение конго красного в кровь.

Результаты опытов позволили сделать вывод, что бактерицидин в дозе 0,5 мл/кг вызывает угнетение поглотительной способности РЭС собак, в дозе 0,3 мл оказывает раздражающее действие, в дозе 0,2 мл — умеренно раздражающее, а доза 0,1 мл является физиологическим колебанием. Многократное внутривенное введение (4 раза шлркйг через каждые 6 ч) чайного гриба в дозе 0,3 мл вызывает торможение (угнетение) фагоцитарной функции РЭС собаки, в то время как доза 0,2 мл при повторном четырехкратном введении этого не вызывает [86, 132].

## Даниелян Л.Т. «Чайный гриб и его биологические особенности»

«Поглотительная функция РЭС под влиянием возрастающих доз чайного гриба представлена в сводной табл. 6, в которой отражена разница в значениях конгорот-индекса между нормой и опытом у 3 собак из 9.

## **Влияние чайного гриба на сердечно-сосудистую систему**

Определяли влияние чайного гриба на кровяное давление, являющееся показателем функционального состояния органов сердечно-сосудистой системы [10, 11, 134]. опыты проводили на теплокровных животных: собаке, кролике, кошке — и на холоднокровных — на изолированном сердце и лапке лягушки. Влияние чайного гриба на кровяное давление изучали при энтеральном и внутривенном однократном и многократном введениях чайного гриба. Кровяное давление измеряли через 10 мин после дачи препарата и в течение 1 ч с 10-минутными интервалами. Одновременно считали пульс и наблюдали дыхание до и после введения чайного гриба.

При энтеральном введении чайного гриба собаке через басовскую фистулу в количестве 25 и 100 мл однократно и 25 и 50 мл двукратно с 6-часовым интервалом отмечали понижение кровяного давления, как максимального, так и минимального. Введение 250 мл однократно в течение 6 дней сопровождалось снижением давления на 35 мм рт.ст., которое держалось в течение 15 дней и затем восстанавливалось до первоначального уровня. Аналогичные результаты получены у кошек, получавших бактерицидин внутрь.

Действие чайного гриба на кровяное давление изучали также в остром опыте на собаках после дачи им про-медол-этаминала. Затем собакам вводили бактерицидин внутривенно в дозах 0,1—0,3—0,5—2,0—4,0 и 5 мл/кг однократно и многократно.

Опыты показали, что бактерицидин в дозе 0,1 мл/кг вызывает едва заметное понижение кровяного давления и незначительное учащение дыхания. Эту дозу признали минимально действующей.

При дозе 0,3 мл/кг бактерицидин заметно понижает кровяное давление, которое через 3—5 мин восстанавливается до исходного уровня. Одновременно отмечаются ускорение и учащение амплитуды сердечных сокращений. Значительное понижение кровяного давления, сопровождающееся компенсаторным учащением дыхательных движений и некоторым уменьшением глубины дыхания, отмечалось при дозе 0,5 мл/кг. При восстановлении кровяного давления дыхание постепенно достигает исходного уровня.

Данные опыта позволяют сделать вывод; что бактерицидин оказывает гипотензивное действие и влияет также на работу сердца. Понижение кровяного давления наблюдали В.К. Алиев и соавт. [5] и Г.П. Маркарян [85] в острых и хронических опытах на собаках и кошках.

При повторном введении чайного гриба в количествах, равных или превышающих первоначальные дозы, в течение опыта не наблюдали изменений сердечно-сосудистой системы и дыхания, лишь Иногда отмечали незначительное понижение кровяного давления.

У собаки после введения 5 мл/кг чайного гриба внутривенно кровяное давление снизилось на 44 мм рт.ст. и держалось на этом уровне в течение 6 мин.

У кошек после введения 3 мл препарата давление снизилось на 20 мм рт.ст. и сохранялось на этом уровне в течение всего опыта, как при даче препарата внутрь.

Исследование на кроликах с прямой кардиографией показало, что внутривенное введение кроликам чайного гриба в больших дозах — от 1 до 5 мл/кг вызывает снижение кровяного давления, которое сопровождается некоторым уменьшением амплитуды сердечных сокращений без изменений ритма, что компенсируется некоторым учащением сердечных сокращений. При дозе 3—10 мл/кг внутрь кровяное давление снижается значительно и на продолжительное время.

Для выяснения влияния периферических сосудов на гипотензивное действие чайного гриба были поставлены опыты на сосудах изолированного уха кролика по Кракову—Писемскому и изолированной лапке лягушки (Трен-деленбурга). Бактерицидин испытывали в различных разведениях — от 1:5 до 1:10 000; в качестве контроля использовали уксусную кислоту и нейтрализованный (рН 7,0) бактерицидин.

Установлено, что у теплокровных животных высокие концентрации чайного гриба (1:100 и 1:500) вызывают как сосудорасширяющий, так и сосудосуживающий эффект. Низкие его концентрации (1:5000 и 1:10 000), как правило, сопровождаются сосудорасширяющим эффектом.

У холоднокровных наблюдали обратную картину: бактерицидин в высоких разведениях вызывает значительное сужение просвета сосудов, быстро снимаемое раствором Рингера, а в низких концентрациях (1:1000 и 1:5000) чаще не изменяет тонуса сосудистой стенки, что указывает на сосудосуживающее действие чайного гриба у холоднокровных. Такое расхождение сосудистой реакции, по-видимому, зависит от видовой специфичности организмов.

Опыты показали, что нейтрализованный бактерицидин в разведениях 1:100; 1:500 и 1:1000 вызывает сосудорасширяющий эффект. Уксусная кислота в разведениях 1:5 и 1:10 сужает сосуды, а в больших разведениях расширяет.

Механизм гипотензивного действия чайного гриба изучали фармакологическим методом путем исключения или возбуждения того или иного отдела вегетативной нервной системы с применением атропина, пилокарпина, раствора адреналина, а также включением ангиорецепции новокаином и повышения мышечного тонуса сосудистой стенки хлоридом бария.

В механизме гипотензивного действия чайного гриба на кровяное давление принимает участие периферическая сосудистая сеть за счет расширения просвета сосудов вследствие угнетения симпатической иннервации и снижения тонуса гладкой мускулатуры. В этом механизме немаловажную роль играет также угнетение работы сердца. В связи с этим возникла необходимость выяснить степень участия сердца в процессах изменения кровяного давления.

При изучении механизма влияния чайного гриба на сердце установлено, что отрицательное действие препарата является следствием его высокой кислотности. Это подтвердилось в опытах с применением нейтрализованного

чайного гриба в разведении 1:100, при воздействии которого отмечалось едва заметное угнетение работы сердца. Результаты опыта показали, что нейтрализация чайного гриба не полностью предотвращает появление отрицательного инотропного влияния. Можно полагать, что в угнетающем влиянии чайного гриба на сердце, помимо кислых соединений, принимают участие и другие его компоненты.

Изучали некоторые механизмы действия чайного гриба. Методом перфузии в сердце вводили растворы адреналина, атропина, хлорида бария в различных комбинациях с бактерицидином. Оказалось, что отрицательное инотропное влияние чайного гриба на изолированное сердце лягушки является следствием угнетения как адре-нергической (симпатической) иннервации, так и его мышечных элементов.

Следующая серия опытов была посвящена изучению влияния на деятельность сердца лягушки культуральной жидкости чайного гриба при различных сроках его культивирования. Предварительно установили, что питательная среда в разведениях 1:100 и 1:200 не оказывает заметного действия на характер сердечных сокращений. Затем была испытана однодневная культуральная жидкость, которая по своему действию не отличалась от питательной среды. Культуральная жидкость 3-дневного срока развития гриба в разведении 1:100 значительно ослабляла сердечные сокращения; в разведении 1:200 действие ее было слабее. В 3-дневной культуральной жидкости кислотность превалировала (рН 2,5) над биологической активностью, последняя была выражена в очень слабой степени (1:7 в отношении *E. coli*).

Затем испытывали 5- и 8-дневную культуральную жидкость с несколько иной кислотностью (рН 2,2) и наличием биологически активного вещества, что выражалось в антибактериальной активности в отношении *E. coli* в разведении 1:17 — 1:25. Такая культуральная жидкость более значительно воздействовала в тех же разведениях (1:100 и 1:200): способствовала уменьшению силы сокращений сердца примерно вдвое. Тринадцатидневная жидкость почти с таким же значением рН (1,2—1,9), но с более высокой антибактериальной активностью (1:25 — 1:50) вызывала остановку сердца в разведениях 1:100; 1:200 и 1:300.

Таким образом, ослабляющее действие на силу сокращений сердца лягушки вплоть до прекращения его работы связано с нарастанием кислотности в нативной жидкости чайного гриба. Усилению сокращений сердечной мышцы, по-видимому, способствует активное вещество, которое в зависимости от степени антибактериальной активности может либо ослаблять, либо усиливать силу сокращения сердца. Следовательно, сила сокращения сердечной деятельности под влиянием чайного гриба зависит от степени его биологической активности [129, 133, 134].

Опыты показали, что повышение биологической активности культуральной жидкости чайного гриба вызывает более сильные сокращения сердечной мышцы, в то время как высокая кислотность ослабляет их.

## **Влияние чайного гриба на секреторную функцию желудочных желез**

Терапевтический эффект препаратов, принимаемых внутрь, зависит не только от антибактериальной активности, но и от способности стимулировать физиологические процессы организма, в частности секреторную функцию желудка.

Проведенные ранее *in vitro* исследования показали, что чайный гриб в присутствии желудочного сока повышает его антимикробное действие. Остается невыясненным, влияет ли он при этом на секреторную функцию желудка. Для решения этого вопроса были проведены серии опытов на двух собаках с изолированными по И.П. Павлову маленькими желудками.

На изолированных желудках предварительно в течение 5 дней изучали характер секреции желудочных желез натощак без чайного гриба, затем на молоке для проверки нормальной работы желудков.

Выяснили, что в течение всего опыта из маленького желудка выделялось в среднем 0,5—0,6 мл слизи нейтральной или слабокислой реакции (рН 6,8—6,9). Характер желудочного сока, его кислотность и переваривающая сила при этом были в пределах физиологической нормы. Полученные показатели являются исходными и послужили основанием для испытания чайного гриба.

Действие чайного гриба в дозах 10, 30 и 50 мл на функцию желудочных желез изучали пероральным введением его голодным животным.

Каждую дозу испытывали пятикратно при наличии пятикратно проведенных контрольных опытов. Показателями служили количество и качество желудочного сока (общая, свободная кислотность) и переваривающая сила, которые определяли каждый час в течение 4 ч.

Результаты исследования показали, что в ответ на введение чайного гриба через 5—7-минутный латентный период начиналось отделение желудочного сока, количество которого увеличивалось соответственно повышению дозы препарата.

Установлено, что при дозах 10 и 30 мл в течение 1-го часа резко повышается секреция желудочного сока, а при дозе 50 мл соковыделение происходит более продолжительное время, причем максимальное количество сока образуется к концу 2-го часа. Во всех случаях после введения чайного гриба отмечали наличие пепсина с высокой переваривающей силой (рис. 14).

С физиологической точки зрения, факт стимуляции соковыделительной функции желудка действием чайного гриба имеет весьма положительное значение. Соковыделительная способность чайного гриба, надо полагать, зависит от его химической природы.

Изучение механизма сокогенного действия показало, что бактерицидин действует возбуждающе на парасимпатическую часть вегетативной (автономной) нервной системы. Такой эффект чайного гриба установлен при действии его на фоне применения адреналина. Оказалось, что адреналин возбуждает симпатическую часть нервной системы, а бактерицидин — парасимпатическую,

## Даниелян Л.Т. «Чайный гриб и его биологические особенности»

причем действие чайного гриба выражено сильнее, чем действие адреналина. т&щц-

Результаты исследования позволяют считать, что чайный гриб стимулирует функцию желудочных желез, так как через 5 мин после введения его в желудок всегда начиналось отделение чистого желудочного сока. Кроме того, отмечен параллелизм между количеством сокоотделения и дозой препарата, т.е. с увеличением дозы чайного гриба усиливалась секреторная функция желудка.

Представленные данные подтверждаются результатами проведенного К. Шахбазян [130] исследования по изучению влияния препарата на моторику желудка.

## **Влияние чайного гриба на моторную функцию и периодическую деятельность желудка**

Исследования проводили на оперированных собаках, которые имели фистулы: одна — желудочную по Басову, другая — кишечную в изолированной петле кишечника, пришитую по методике Павлова—Германа, а третья — по Тири—Веллы.

Изучали влияния чайного гриба на моторную функцию желудка. Сначала собаке, оперированной по Басову, промывали желудок, затем на кимографе в течение 4 ч регистрировали моторную функцию желудка и устанавливали нормы. Бактерицидин вводили в дозах 10, 30 и 50 мл, изучали секрецию желудочных желез. ЩОЦ

В результате проведенных исследований выяснилось, что чайный гриб в дозе 10 мл не вызывает изменений моторной функции желудка. После введения препарата в дозе 30 и 50 мл через 5~>-7 мин определяли некоторое усиление двигательной функции желудка в продолжение 15—30 мин с частотой 1—2 сокращения в минуту независимо от дозы чайного гриба. щ&3

Эвакуаторную деятельность желудка под влиянием чайного гриба изучали на собаке с изолированной петлей кишечника, оперированной по методике И.П. Павлова. Бактерицидин давали в дозах 0,1—0,5; 1 и 3 мл/кг через 18—20 ч после кормления.

Бактерицидин в дозе 0,1 мл/кг, как правило, не изменял исходного состояния моторной функции желудка, но в дальнейшем вызывал значительную непродолжительную стимуляцию этой функции в виде увеличения числа и силы сокращений. Отмечалось также увеличение числа маят-никообразных сокращений кишечника, совпадающих с периодом стимуляции моторики желудка, но не всегда. Иногда не наблюдали каких-либо изменений функций желудка и кишечника.

Бактерицидин в дозе 0,5 мл/кг после начального кратковременного угнетения вызывал значительную стимуляцию сократительной способности желудка и кишечника продолжительностью до 1—1,5 ч, при этом моторная стимуляция кишечника проявлялась увеличением силы сокращений и учащением маятникообразных волн.

В дозах 1 и 3 мл/кг бактерицидин оказывал почти тот же моторный эффект с той лишь разницей, что несколько увеличивался период начального угнетения, а в последующем и стимуляции продолжительностью соответственно сдвигам в моторике желудка. Отмечалась кратковременная умеренная задержка эвакуации содержимого желудка в двенадцатиперстную кишку. Это нарушение постепенно восстанавливалось. Задержка эвакуации содержимого желудка совпадала с периодом угнетения его моторики, что свидетельствует об общности действия чайного гриба на двигательную функцию и эвакуаторную способность желудка.

В опытах на собаках с изолированной петлей по Тири—Веллы установлен фазный характер действия чайного гриба на моторику желудка. Бактерицидин в дозах 0,5—1,0 и 3 мл/кг действовал на моторную функцию желудка собак

двухфазно. Первая фаза характеризовалась кратковременным угнетением, а вторая — стимуляцией.

Фазелмоторного угнетения желудка отмечалась некоторая задержка эвакуации желудочного содержимого в двенадцатиперстную кишку с последующим восстановлением ее в фазе стимуляции.

Двухфазный период действия чайного гриба на моторику желудка объяснялся угнетающим действием его высокой концентрации в I фазе и стимулирующим действием во II вследствие разбавления чайного гриба и час-тинной его эвакуации. Освобожденные от влияния тормозящего рефлекса нервно-мышечные элементы стимулируют моторику желудка, затем и кишечника.

Для выяснения механизма действия чайного гриба на моторику желудка и кишечника проводили испытание чайного гриба в условиях избирательного изменения функционального состояния разных отделов нервной системы, а также мышечного тонуса стенок желудочно-кишечного тракта с использованием кофеина, брома, атропина, кар-бохолина.

Исследования показали, что угнетение моторики желудка в I фазе действия чайного гриба происходит в результате функционального торможения мышечных элементов. Стимуляция ее во II фазе свидетельствует о нейро-генной стимуляции бактерицидином моторной деятельности желудочно-кишечного тракта. На это указывают данные опыта: бактерицидин в I фазе, когда вызывает угнетение желудка, проявляет себя как синергист атропина; во II фазе, когда угнетение моторики сменяется стимуляцией, становится антагонистом атропина.

Чайный гриб, введенный на фоне возбуждения коры головного мозга кофеином, сохраняет двухфазность действия, причем II фаза иногда проявляется более выраженно, чем обычно. Введение препарата на фоне торможения коры мозга бромом сопровождалось продолжительным угнетением моторной функции желудка и в слабой степени кишечника, указывающими на различный характер изменения моторной функции желудка под действием чайного гриба [130].

Исследования показали, что бактерицидин вначале, как правило, вызывает кратковременную и умеренно выраженную задержку эвакуации содержимого желудка в двенадцатиперстную кишку. Эта задержка совпадает с деятельностью периода угнетения его моторики, что свидетельствует об общности действия чайного гриба на двигательную и эвакуаторную функции желудка [130].

Изучали влияние чайного гриба на моторику желудка и кишечника осла с хронической фистулой в двенадцатиперстной кишке, оперированного по методу С.Г. Мелик-сетяна (1953). Подопытному животному на голодный желудок через носоглоточный зонд вводили бактерицидин (300 мл), одновременно производили запись работы желудка и двенадцатиперстной кишки на кимографе. Аналогичное исследование проводили после дачи такого же количества воды. У животного наблюдали учащение сократительных движений желудка (на 6—7 сокращений) при одновременном учащении сокращений кишечника. В обоих исследованиях наблюдали некоторое усиление сокращений.

Опыты, проведенные на фоне пищеварения, через 5 ч после дачи отрубей, показали, что спустя 10 мин после введения чайного гриба наблюдается

некоторое повышение по сравнению с нормой частоты сокращений желудка и двенадцатиперстной кишки (на 2—3 сокращения) при сохранении силы сокращения в пределах нормы. В кишечнике к концу 15-минутного периода регистрировались учащенные и сильные сокращения.

Как показывают результаты исследования, возникшие изменения в моторной функции желудка, вызванные действием чайного гриба, отражаются на эвакуаторной способности желудка. Это свидетельствует о положительных качествах чайного гриба и является, по-видимому, фактором, определяющим эффективность его при желудочно-кишечных инфекциях.

Опыты по изучению влияния препарата на двигательную функцию желудка проводились Л.Л. Бадаловой вне пищеварения и во время пищеварения при кислой реакции содержимого желудка собаки, оперированной по методу Басова. Исследования показали, что период покоя деятельности желудка вне пищеварения длился в среднем 1 ч 29 мин, а период работы составлял 29 мин.

Неразведенный чайный гриб, влитый в полость желудка в период покоя его периодической деятельности, способствовал удлинению этого периода до 2 ч 56 мин. Таким образом, период покоя был более продолжительным, чем во всех предыдущих сериях опытов. Если препарат вводили в фазу периодической деятельности органа, наблюдали мгновенное прекращение сокращения желудка на весьма продолжительное время — от 50 мин до 1 ч 26 мин. Одновременно отмечали ослабление силы сокращений во время очередного периода работы. Аналогичное действие оказывал и 10—50 % раствор препарата.

Прекращение сокращений желудка в фазу периодической деятельности и удлинение периода покоя вследствие воздействия чайного гриба, возможно, способствуют повышению его терапевтического эффекта [10, 11].

Таким образом, малые дозы чайного гриба (5 % раствор) не вызывают особых изменений в периодической деятельности желудка, в то время как введение более высоких концентраций и неразведенного препарата прекращает периодические сокращения и способствует удлинению последующего периода его работы. Указанное явление в какой-то степени характеризует эффективность препарата.

## Литература о чайном грибе (*Medusomyces Gisevii*)

История чайного гриба. Культура чайного гриба представляет интерес не только с точки зрения истории ее возникновения и распространения, но и с научной, так как по своим биологическим свойствам она имеет перспективное социально-экономическое значение. Об этом свидетельствуют исторические сведения о чайном грибе, его полезных свойствах и широком распространении в России и Европе. , ;

Сведения о путях проникновения культур чайного гриба в быт человека недостаточно известны. Ограничены также данные о пути и времени появления этой культуры в России. Чайный гриб культивировался во многих зонах: на севере России, в Белоруссии, Украине, на Кавказе, в Поволжье, а также за рубежом.

По данным зарубежных авторов [213, 21Ц], сведения о происхождении чайного гриба (*Kombucha*) различны. Одни авторы считают, что *Kombucha* известен со времен создания Библии, по сведениям других ее использовали с 220 г. до н.э., еще при династии Цзин. В 414 г. н.э. эту культуру привезли из Кореи в Японию, а по некоторым данным — из Китая в Японию, откуда затем она проникла в Россию, Восточную Европу и Америку. ЕиВД. Курсанов, Н.А. Камаринский [£1, 82] полагают, что чайный гриб распространился в России после русско-японской войны, поэтому он получил название японского гриба. Названия «маньчжурский гриб», «японский гриб» и «японская губка» даны чайному грибу на основании того, что он вывезен, по одним данным\* из Маньчжурии во время русско-японской войны, по другим — из Японии, но когда и кем неизвестно [14—17].

Н. Harms [169] и S. Hermann [175] считают, что чайный гриб — это культура, вышедшая, вероятно, из Китая, что подтверждается названием «кам-бу-ха», где слог «ха» по-китайски означает чай. Однако Р. Propfe [212] писал, что так в Японии называют чай, полученный из морских водорослей, которые ничего общего не имеют с чайным грибом.

Ученый-биолог краевед Е.Д. Петряев [102] в газетной статье «Чайный гриб — *Medusomyces*» (1951) и в приложении к своей книге «Лекарственные растения Забайкалья» (1952) приводил архивные материалы и указывал, что русские исследователи и бытописатель Забайкалья М.А. Зензинов [66, 67] еще в XIX столетии отмечали широкое распространение чайного гриба в Восточной Сибири, где он применялся под названием «чайный квас». Как отмечает Е.Д. Петряев, акад. И.И. Редовский (1805) в своем дневнике «Путешествие от Кяхты до Угры и от Иркутска до Гижигинска» упоминал о приготовлении уксуса путем брожения сладкого гороха, который китайцы используют в качестве приятного тонизирующего напитка. В 90-х годах XIX в. выдающийся краевед Забайкалья и Восточной Сибири врач Н.В. Кириллов [77] испытал действие чайного гриба на организме человека. По данным Н.В. Кириллова, систематический прием культуральной жидкости гриба внутрь отчетливо улучшает самочувствие людей преклонного возраста с выраженными явлениями атеросклероза и благотворно действует при атонии кишечника и желудочно-кишечных заболеваниях. Исследования Н.В. Кириллова, по сведениям Е.Д. Петряева [100—102], были подтверждены военным врачом А.К. Белявским (1872—1931), работавшим в г. Стретенске.

Чайный гриб в связи с широким его распространением получил различные названия: «морской гриб» или просто «гриб», «квас» или «чайный квас». Последний термин введен А.А. Бачинской из-за его приготовления на настое чая с сахаром, в который вносят закваску, носящую название гриба. Называют его также волжским грибом, или волжской медузой [23, 81].

Существуют и другие названия: индийский чайный гриб, чудесный гриб (в Германии), чайный гриб (в Англии), Комбуха (в Китае), *Kombucha orientalis* — поллатыни, научное его название — *Medusomyces Gisevii* Lindau. N.P. Vuu-Hoi и A.R. Ratsimamanga [149] указывают, что чайный гриб в Испании и юго-западной Франции распространен под названием «Hongo».

G.W. Frank [164] в своей книге «Котъиспа» приводит 86 синонимов названия чайного гриба. Автор указывает, что наиболее распространенное название «Комбуха».

По мнению Л.М. Лойцянской, как указывает Т.И. Афанасьева [8], все перечисленные названия, с научной точки зрения, не точны и не характеризуют сущность этого симбиоза. Они не позволяют установить ни состав входящих в симбиоз микроорганизмов, ни биохимические процессы, происходящие в напитке, ни среду, в которой этот организм растет.

Наиболее приемлемыми, как указывают А.А. Бачинская [16] и Л.М. Лойцянская, являются наименования «чайный гриб» и «чайный квас», очевидно, вследствие того, что напиток больше соответствует хлебному квасу, который представляет собой продукт спиртового и молочно-кислого брожения.

Таким образом, все сведения о происхождении этой культуры и ее распространении остаются неразгаданными, а различные названия действительно не отражают ее сущность. Из истории известно лишь то, что с давних пор культуральная жидкость чайного гриба применялась в быту в качестве освежающего напитка и лечебного средства в народной медицине при разных заболеваниях. Это не могло не привлечь внимания медицинской общественности. Е.Д. Петряев [102] свидетельствует, что жители Восточной Сибири, в том числе врачи, чайный квас применяли внутрь как народное средство при многих заболеваниях, а наружно — для промывания ран.

В 1938 г. Т.Е. Болдырев испытал действие культуральной жидкости чайного гриба с положительным эффектом при острых кишечных заболеваниях, в том числе дизентерийных, на 3000 красноармейцах [цит. 102]. Он доказал ее высокий терапевтический эффект при лечении диспепсии с явлениями дистрофии. В этот же период в журналах появляются обзорные статьи R. Kobert [188], N. Floresco [162], ДМ. Щербачева [136], М. Горденко [26], Л.М. Уткина [111], Б.П. Василькова [21], А.Ф. Барданина [12], А.И. Лескова [84] о положительных свойствах чайного гриба. Позже Е.Ю. Шасс [124—128], председатель ученого совета Фармакологического комитета Академии наук здравоохранения СССР, в своих статьях, отвечая на многочисленные вопросы людей, использующих чайный гриб в быту, был весьма осторожен. Он воздержался высказать свое мнение о полезности или вредности чайного гриба и считал совершенно необходимым поставить вопрос об изучении этой культуры в научных институтах.

Помимо чайного гриба, в литературе имеются сведения о симбиозе «Тиби», о котором впервые упомянул M.L. Lutz [205], получивший его из Мексики. S. Blumer (1934), R. Porchet (1934), H.D. Maier (1938) указывают [цит. 217], что напиток «Тиби» отличается от чайного гриба как по внешнему виду, так и по структуре образуемой им пленки. Питательной средой для «Тиби» является раствор сахара, в который вносят разрезанные кусочки сухого инжира; по вкусу и запаху этот напиток ничем не (Отличается от напитка чайного гриба.

Микрофлора и биология чайного гриба. Первые научные сведения о микрофлоре чайного гриба появились в 1913 г. в статьях G. Lindau [200] и А.А. Бачинской [15]. При микроскопическом изучении этого организма, доставленного доктором Гизевеиус, G. Lindau обнаружил только дрожжи и сделал заключение, что студенистая масса, имеющая вид медузы, является зооглеей нового вида дрожжей, относящихся к роду *Mycoderma*. Он предложил назвать его в честь Гизевеиуса *Medusomyces Gisevii* Lindau.

Изучение этого гриба продолжил известный микробиолог P. Lindner [201]. В результате микроскопических Исследований пленки он обнаружил не только дрожжи, но и уксусно-кислые бактерии и опроверг мнение о существовании нового вида дрожжей *Medusomyces Gisevii*. Напиток этого гриба G. Lindau назвал «медузовый чай» вследствие внешнего сходства чайного гриба с медузой.

А.А. Бачинская [15] впервые изучила морфологию чайного гриба, доставленного из разных мест России (Петербург, Екатеринослав, Одесса, Курск, Вильнюс, Витебск, Ярославль, Тамбовская губерния, Кавказ). При посевах на средах, содержащих 6 % тростникового сахара, она выделила чистые культуры уксусных бактерий, относящихся к типу *A. xylinum*, и спорообразующие дрожжи, которые были отнесены ж зигосахаромицетам.

Исследования А.А. Бачинской, А.А. Городкова с 1908 по: 1931 г. [14—17, 28] по морфологии И бивйогии культуры чайного гриба являются единственными по полноте данными того периода.

В 1926 г. W. Henneberg [174] описал два вида микроорганизма — дрожжи и разновидности уксусно-кислых бактерий, обитающих в плотной зооглее этой культуры, представляющей собой слизистую массу, которая дает реакцию на клетчатку. В жидкостях сначала растут уксусно-кислые бактерии в виде слизистой массы, которая позднее образует кожистую пленку, разрывающуюся с трудом;

ИЛИ. Курсанов изучая чайный гриб для установления систематической категории этой культуры, отнес ее к семейству сахаромицетов и все же культуру описал под тем же названием *Medusomyces Gisevii*, не получившим утверждения классической микробиологией. Указанное назвжщ щ вот\* ветствует^мсчрфьлогической структуре этого комплексного образования и не вошло в определитель бактерий Bergey.

Интерес к этой культуре возрастал, появлялисьсьлсе; новые данные как зарубежных, так и русских исследователей. В 20-х годах появились работы W. Henneberg, S. Hermann, H. Harms, N. Lederer, H. Lowenheim, W. Heubner, M. Bing, W. Eberding, В. Гинце, N. Lakowitz; в 30-х — N. Floresco, K.K. Fluck, Д.М. Щербачева, Л.Л. Кашевник, Л.М. Уткиной, Л.М. Горовиц-Власовой, Д.О. Бухмана, Л.Д. Кашевник, М.И. Зубова, Л.Т. Даниеловой, Г.А. Ша-каряна, Е.К. Наумовой и др.;

в 50—60-х годах — Б.П. Ва-силькова, В.С. Тиндитник, З.В. Ермольевой, Т.И. Афанасьевой, Л.Н. Лойцанской, Г.А. Шакаряна, Л.Т. Даниеловой (Л.Т. Даниелян), Е.Д. Петряева, Е.Л. Порицкого, Е.С. Златопольской, КС. Гарнага, Е.К. Наумовой, И.Н. Коновалова, М.С. Семеновой, Г.П. Маркарян, Г.Д. Барбан-чик, В. Флюка, Е. Штейнеггера и др.

Е. Dinslage, W. Ludorff [154], M. Bing [144, 145] показали, что источником азота для этой культуры могут быть также кофе и другие азотсодержащие вещества (аммонийные соли, аммонийные фосфаты). Следовательно, жизненные функции чайного гриба не связаны только с чаем или кофе как с источником азота, он может развиваться и на средах, в которые входят другие азотсодержащие вещества.

Ряд авторов: Л.Д. Кашевник [73, 74], И.Н. Коновалов, М.А. Литвинова, Л.М. Закман [80], изучая условия культивирования чайного гриба, указывают, что развитие его происходит в водных растворах 5—10 % сахарозы, лимонной кислоты, растворимого крахмала, глицерина, дрожжевого экстракта в присутствии небольшого количества

Следует отметить, что в 20—30-е годы исследовали лишь отдельные стороны биологии и микрофлоры чайного гриба, причем они имели случайный характер. Более углубленные исследования чайного гриба начались с 40-х годов XX в. Исследователей интересовала культура чайного гриба как продуцент различных органических кислот, витамина С и антибактериальных веществ.

Немногочисленные эксперименты последующего периода (1950—1998) были посвящены способу его культивирования, химическому составу культуральной жидкости, ее влиянию на физиологические функции организма и лечебным свойствам. Большая часть зарубежных статей посвящена эмпирическому применению чайного гриба. Описано влияние его на организм по самочувствию людей, употребляющих нативную жидкость чайного гриба при различных заболеваниях инфекционного и неинфекционного характера.

Таким образом, исследователи всех времен описывали культуру чайного гриба как симбиоз двух видов микроорганизмов: уксусно-кислых бактерий и дрожжей, однако по видовому составу микрофлоры симбионтов имелись расхождения. Отмечено несовпадение как в составе бактерий, так и дрожжей. Несходство в качественном составе микроорганизмов различных культур чайного гриба связано, очевидно, с географическими зонами, откуда были доставлены образцы этого организма. По-видимому, они образовались из преобладающих видов распространенных в данной местности дрожжей и уксусно-кислых бактерий, тем более что развитие этой культуры происходит при свободном доступе воздуха. Возможно, этим обстоятельством объясняются существующие в литературе противоречия как о видовом составе микроорганизмов, входящих в симбионты чайного гриба, так и о свойствах его культуральной жидкости.

Мы сочли необходимым провести изучение на одном образце этой культуры для выяснения и уточнения как микрофлоры, так и биологических свойств культуральной жидкости чайного гриба. Литература о чайном грибе в ближнем и дальнем зарубежье в основном популярная, и до сих пор нет обобщенных, экспериментально обоснованных сведений и результатов широкого клинического испытания культуральной жидкости чайного гриба.

Химический состав культуральной жидкости. Химическим составом чайного гриба интересовались многие ученые. Еще в 1913 г. при качественном анализе культураль-

ной жидкости чайного кваса А.А. Бачинская определила наличие в ней уксусной кислоты, спирта и углекислого

Позже, с 1927 г. как русские, так и зарубежные авторы [142, 154], изучавшие химический состав культуральной жидкости чайного гриба, указывал на наличие в ней разных органических кислот (уксусная, глюконо-вая, оксиглюконовая, щавелевая, молочная, пировино-градная, койевая) и следов спирта.

т S. Hermann [175—179] при анализе культуральной жидкости на наличие щавелевой, винно-каменной, лимонной, янтарной и молочной кислот получил отрицательные результаты. Автор обнаружил лишь уксусную кислоту, следы спирта и глюконовую кислоту. Подобные результаты получили И.Н. Коновалов и М.А. Семенова [79], отрицавшие содержание в культуральной жидкости чайного гриба лимонной, щавелевой и нуклеиновой кислот. Они указывали на наличие в ней негидролизуемых Сахаров (моносахариды), уксусной и глюконовой кислот, следов муравьиной кислоты, общего азота в пределах 0,04 %, а белкового азота 0,02 %.

Некоторые исследователи [27, 76] доказывают возможность синтеза аскорбиновой кислоты симбионтами чайного гриба. Однако W. Henneberg [173, 174], S. Hermann и N. Fodor [181], М.К. Березова, А.А. Данилевская и А.В. Рейслер [18], Н.А. Григорович [29], И.Н. Коновалов и М.А. Семенова [79] на основании проведенных исследований пришли к отрицательному выводу относительно синтеза аскорбиновой кислоты. Они считают, что чайный гриб не может рассматриваться как продуцент витами-ЩЩ, так как он обнаруживается в ничтожных количествах, примерно от 0,01 до 0,1 мг в 1 мл.

В 1931 г. Л.Д. Кашевник [73] обнаружил высокое содержание витамина С в нативной жидкости чайного гриба, что, как отмечает автор, подтверждается данными G. Such и P. Szabo. Авторы на 5-й день роста чайного гриба обнаружили аскорбиновую кислоту, содержание которой к концу 2-й недели достигало максимума (5—10 мг%). Исследователи показали также, что вещества, усиливающие синтез аскорбиновой кислоты (хлорэтан, парааль-дегид севанал-1а), повышают продукцию витамина С на 20—25 %, поэтому они считают, что японский гриб может использоваться как источник аскорбиновой кислоты.

По данным N. Floresko [162], в нативной жидкости чайного гриба содержатся ферменты сахараза, амилаза, зимаза и протеаза.

Л.Д. Кашевник [75, 76] указывает на наличие в чайном грибе 1,56 % жироподобных веществ и 3 % липоидной фракции, а при ее отмывании — холина. Зооглея этой культуры, по мнению автора, является продуктом сложных химических превращений углеводов и состоит из чистой целлюлозы, а склеивающий их гель — из хитиноподобно-го вещества.

В 1958—1964 гг. З.В. Ермольева, Г.Е. Вайсберг, Т.Н. Афанасьева, Н.И. Гивенталь [65] и др. извлекли из вегетативной части чайного гриба вещество

липополисахаридной природы, которое называли ЦИИНОМ, а затем ацетоксином А и В, стимулирующим гуморальные факторы организма.

В.К. Алиев, Г.Б. Аллахвердибеков и Д.Г. Тагдиси [5] обнаружили алкалоиды, глюкозиды, сапонин, сахаристые, смолистые и жирные вещества, а также органические кислоты (глюконовая, уксусная, лимонная и молочная).

По данным М. Roussin [214], синтез кетонов при росте чайного гриба лучше происходит при добавлении к среде глюкозы в количестве 300 мг/дл и 5 г черного или зеленого чая.

Р. J. Blanc [147] установил, что изменение pH среды и накопление глюкуроновой кислоты зависят от концентрации сахара при росте чайного гриба при температуре 20 °С. По данным автора, в средах с концентрацией сахара 50 и 70 г/л на 6-й день pH достигает 2,0 без накопления глюкуроновой кислоты. На среде, содержащей 100 г/л, pH 2,5, при этом на 5-й день обнаруживается 1,34 г/л этанола, 0,6 г/л молочной кислоты, 4,5–5,6 г/л уксусной кислоты. Более 30 г/л глюкуроновой кислоты обнаруживается на 20-й день культивирования чайного гриба (Kombucha). Автор указывает на детоксическое действие этой кислоты. Токсины в организме становятся водорастворимыми, легко связываются с глюкуроновой кислотой и выводятся с мочой.

В 1996 г. J. Novak [211] в 5-дневной культуральной жидкости чайного гриба обнаружил 0,1153 мг витамина С, 0,6420 мг никотиновой кислоты, 0,2794 мг фолиевой кислоты и 1,1594 мг рибофлавина, а в 15-дневной культуральной жидкости — 0,22 г сахара, 0,78 г глюкозы и 0,65 г фруктозы, т.е. остаточные количества углеводов — 1,65 г.

Антибактериальная активность культуральной жидкости. Наряду с установлением химического состава культуральной жидкости чайного гриба многие ученые интересуются антибактериальной активностью нативной жидкости этой ассоциации. Изучали влияние различных факторов внешней среды на синтез биологически активных веществ, а также возможность их извлечения из культуральной жидкости чайного гриба.

По данным одних исследователей [7, 22, 92, JS, 106], накопление антибактериального вещества в культуральной жидкости чайного гриба происходит при содержании в среде 5–10 % сахарозы или глюкозы. И.Н. Коновалов, М.А. Литвинов и Л.М. Закман [80] считают, что вещество накапливается не только при наличии 5–10 % сахарозы, но и крахмала, лимонной кислоты, глицерина. Добавление 5 % меда к настою чая, по данным Н.П. Иориси [70, 71], повышает бактерицидные свойства культуральной жидкости чайного гриба к микробам кишечной группы; такой настой, как указывает автор, эффективнее настоя гриба, приготовленного только на одном сахаре.

Температурный оптимум для развития чайного гриба, по данным Е.К. Наумовой [92], А.О. Сукиасян [106], И.Н. Коновалова и М.А. Семенова [79], равен 25–30 °С; по данным Л.М. Уткиной [111] — 24–27 °С; температура 30 °С замедляет его развитие, а при 35 °С оно прекращается.

Мнения указанных исследователей относительно влияния аэрации и освещения на интенсивность образования антибактериальных веществ в

культуральной жидкости чайного гриба не совпадают. Одни авторы указывают на шачение поверхности аэрации, объема среды и освещения в развитии чайного гриба и накопления антибактериальной активности, в то время как другие сообщают, что эти условия существенным образом не оказывают влияния на изменение антибактериальной активности культуральной жидкости этой ассоциации.

Данные о повышении кислотности и связи ее с активностью культуральной жидкости также разноречивы. Некоторые авторы отмечают, что повышение концентрации кислот в культуральной жидкости способствует снижению антибактериальной активности. Другие считают, что нарастание антибактериальных свойств культуральной жидкости связано с ее повышением.

Не согласуются также сведения об оптимальных сроках нарастания антибактериальной активности нативной жидкости гриба: по одним данным, она достигает максимума на 10—20-й день роста гриба, по другим — на 25—30-й день.

Таким образом, приведенные в литературе данные о биологии чайного гриба разноречивы относительно вида и количества использованного углевода, влияния степени освещенности и аэрации питательной среды; не установлена точно связь между антибактериальной активностью и кислотностью культуральной жидкости и т.д.

Все эти расхождения, очевидно, связаны с тем, что условия культивирования чайного гриба, обеспечивающие образование антибиотических веществ, создавались не по единой методике. Кроме того, исследования проводились на различных образцах чайного гриба, имеющих неодинаковые свойства, зависящие от микробного состава симбионтов.

Терапевтические свойства. Научные исследования терапевтических свойств культуральной жидкости чайного гриба начаты в 20-х годах XX в. В 1927 г. W. Neubner [182] на себе определил болеутоляющее действие этой жидкости при атеросклерозе.

Впервые в 1927 г. S. Hermann [180] экспериментально вызвал у подопытных животных (крысы, кролики, собаки, кошки) отравление вигантолом — препаратом, вызывающим повышение количества холестерина в крови, затем введением настоя *Kombucha* внутрь добился снижения холестерина до нормы. Автор считает, что главным действующим началом *Kombucha* является глюконовая кислота.

По данным Madaus [206], *Kombucha* оказывает воздействие на регенерацию клеток и является отличным средством для укрепления стенок артерий.

M. Bing [145, 146] сообщил о терапевтическом эффекте «*Kombucha-mushroom*», а в 1929 г. E. Arauner [138] в своем медицинском отчете пришел к заключению, что *Kombucha* является профилактическим средством при диабете, атеросклерозе, повышенном давлении с головокружением, неврозах и ревматизме. W. Wiechowski в 1928 г. [221] на основании опытов на животных, а также наблюдений над людьми, принимавшими чайный гриб, отметил, что последний улучшает только субъективно состояние при атеросклерозе, но не оказывает лечебного действия.

ШМ 1944 г. М.И. Зубов [69] и Н. Irion [185] установили, что чайный гриб укрепляет лимфатическую систему и рекомендовали его при ревматизме, фурункулезе, атеросклерозе, высоком артериальном давлении, депрессии и возрастных проблемах. Чайный гриб гармонизирует и балансирует метаболизм, удаляет или предотвращает нежелательные отложения жира. При использовании чайного гриба остатки мочевой кислоты и холестерина становятся растворимыми и выводятся из организма.

Исследователи 50-х годов указывают что настой Чайного гриба уменьшает содержание холестерина в крови человека. Особенно ценным в этом отношении является медовый настой чайного гриба, обогащенный витаминами С и группы В. Такой напиток рекомендуют как средство для успокоения нервной системы и при атеросклерозе.

В 40—50-х годах Е.К. Наумова [91, 92] (кафедра микробиологии Казанского медицинского института) опубликовала результаты работ по изучению антибактериального действия и терапевтических свойств культуральной жидкости чайного гриба и ее концентрата, названного автором «Медузин».

Е.К. Наумова экспериментально доказала эффективность чайного гриба при пневмококковой инфекции глаз у 6 кроликов, дифтерии глаз у 12 морских свинок, саль-монеллезной инфекции у 9 мышей и при дифтерийной бактериемии у 50 больных мышей. Искандаров подтвердил лечебные свойства культуральной жидкости в условиях клиники при пневмококковых конъюнктивитах, ксерофтальмии, хроническом блефароконъюнктивите, запущенных формах гнойных кератитов и др. Медузин при капельном введении был особенно эффективен при пневмококковых конъюнктивитах: быстро купировался воспалительный процесс, исчезали микроорганизмы, гнойные клетки в конъюнктивальном мешке и на 3—4 дня быстрее 11 роговица отек, чем при других методах лечения.

В 50-х годах А.Т. Михайлова [88], Т.А. Аджян [4], Л. В. Асатрян, Л.Г. Атанесян, А.В. Асоян, Л.Т. Даниелян [6] и др. испытали терапевтическое действие культуральной жидкости чайного гриба в детских клиниках при острой шизентерии и токсической диспепсии, а Е.С. Златопольская [68] — при язвенном стоматите. Больные получали культуральную жидкость в сочетании с сульфаниламидными препаратами и антибиотиками в течение 7 дней

в дозе 10—20 мл в зависимости от возраста. А.Т. Михайлова [88] считает, что культуральная жидкость чайного гриба не оказывает лечебного действия при хронической форме дизентерии, но была эффективна в 5 случаях бактерионосительства. Е.С. Златопольская [68] отметила, что чайный гриб при язвенном стоматите оказывает эффект уже на 2-й день после начала лечения, а к 3—5-му дню наступает полное излечение. По данным Т.А. Аджян, чайный гриб весьма эффективен и при токсической диспепсии у детей.

Лечебные свойства культуральной жидкости были испытаны и в хирургической практике. В.С. Тиндитник и др. в 1951 г. [110] отметили, что всевозможные мелкие гнойные раны на пальцах рук и ног хорошо поддаются лечению нативной жидкостью чайного гриба.

N.P. Vuu-Hoi и A.R. Ratsimamanga [149] сообщили, что в Испании и юго-западной Франции культуральную жидкость применяют как лечебное средство при различных заболеваниях и особенно при заболеваниях печени и желчного пузыря.

К.М. Дубровский и соотр. < 1943—1955) отметили высокий терапевтический эффект препарата «ММ» (медузоми-цин), полученного из чайного гриба. Они наблюдали положительное воздействие препарата при ожогах и обморожениях, гнойно-некротических процессах, инфекционных заболеваниях у взрослых и детей: дифтерии, скарлатине, гриппе, брюшном тифе, паратифе, дизентерии (бациллярной); болезнях уха, горла и носа; глазных заболеваниях; при различных видах гастрита, холециститах. К сожалению, эти положительные результаты не отражены в специальной литературе.

В клинических условиях проф. А.Ф. Барбанчик [12] и соотр. в 1954—1957 гг. применили 7—8-дневную культуральную жидкость чайного гриба при выраженных формах атеросклероза и повышенном артериальном давлении (52 больных). Терапевтический эффект был высоким: количество холестерина снизилось до нормы. Аналогичный результат получен у 75 больных с различными формами острого тонзиллита. У всех оцданных отмечали быстрое купирование местных и общих явлений и снижение температуры тела до нормы на 2-й день после начала лечения. Только у одного больного, у которого острый тонзиллит был проявлением туляремии, настой чайного гриба оказался неэффективным.

Возросший лечебный эффект авторы наблюдали у 15 больных хроническим энтероколитом гастрогенного происхождения (на почве декомпенсированного хронического анацидного гастрита), Больные получали по 100 мл нативной жидкости чайного гриба 3 раза в день за 2 ч до еды. В результате такого лечения J9BB на 2-\* Сутки исчезла болезненность в области живота, появился аппетит и установился нормальный стул. Такие же результаты получены при лечении 32 больных дизентерией 7—8-дневной культуральной жидкостью, при этом у 10 больных дизентерия была установлена бактериологически. После лечения культуральной жидкостью чайного гриба возбудители при многократных повторных исследованиях не обнаруживались. Наиболее эффективно культуральная жидкость оказывала действие при бактериальной дизентерии типов Флекснера, Шига, а также во всех случаях клинической дизентерии без обнаружения определенного бактериального его варианта.

N.P. Joirisi [184] сообщил, что в Чехословакии Якш применил настой чайного гриба для лечения больных атеросклерозом; результаты превзошли все ожидания. У больных в короткий срок исчезли жалобы, характерные для данного заболевания, повысилась работоспособность, заметно снизилось артериальное давление.

Представленные данные безусловно свидетельствуют о терапевтическом эффекте культуральной жидкости чайного гриба при развитии инфекционных и неинфекционных процессов.

В 1964 г. R. Sklenar [216] отметил возможность лечения ревматизма, атеросклероза, дисбактериоза, фурункулеза и импотенции культуральной жидкостью Kombucha. Кроме того, Kombucha разрушает мочевую кислоту и холеса-рин, играет важную роль в восстановлении кишечной микрофлоры.

V. Kohler [89] сообщил, что чайный гриб содержит

1 покуроновую кислоту, которая повышает физиологическую резистентность организма и способствует образованию интерферона. Кроме того, она выводит из организма нжеины, улучшает окислительно-восстановительные процессы в организме.

V. Carstens [150] отмечал детоксикацию Организма и повышение метаболизма и защитных функций организма при использовании чайного гриба.

H. Irion [185] сообщил о результатах исследования с 1944 по 1987 г. лечебных свойств чайного гриба при ревматизме, фурункулезе, атеросклерозе, гипертонии и гармонизации обмена веществ.

В 1989 г. появилась книга G. Frank [164, 166] о чайном грибе «Комбуча», также пропагандирующая полезные свойства культуры чайного гриба с описанием методов его культивирования.

D. Minden [209] в обзорной статье привела сведения о положительном эффекте чайного гриба при клиническом исследовании разных инфекций. Исследования проводили в Америке, России, Швеции, Германии и в других странах, где чайный гриб употребляется населением в течение сотен лет. D. Minden перечислила заболевания, при которых был получен положительный эффект: общая слабость, артриты, плохое пищеварение, колиты, инфекционная диарея, бронхит и астма, кандидамикоз, пониженный аппетит, стрессы и бессонница, ревматизм, псо-риаз и др.

В обзорной статье I. Sease [215] указал, что в состав культуральной жидкости Kombucha, по-корейски Divin Tsche (небесный чай), входят разные активные субстанции (алкоголя 0,5—1 %, глюкуроновая, молочная, уксусная кислоты, оксикислоты, антибиотические и антисептические вещества). Все они оказывают положительное действие на все системы организма: улучшают обменные процессы клетки, усиливают деятельность иммунной системы, нейтрализуют токсины, а также оказывают проти-воинфекционное действие. Автор отметил эффективность культуральной жидкости при запорах, неврозах желудка, мышечных болях, аллергии и коронарном атеросклерозе. Она улучшает работу печени, удаляет камни из почек, понижает уровень глюкозы и холестерина в крови, помогает при катаракте глаз, тромбофлебите, дизентерии; кроме того, останавливает рост опухолей.

Обладает ли чайный гриб канцерогенным свойством? У потребителей культуральной жидкости чайного гриба, а также у врачей возникает вопрос: не обладает ли натив-ная жидкость чайного гриба канцерогенным свойством. В ответ на этот вопрос в 1954 г. проф. А.Ф. Барбанчик [12] сообщил: «Между тем в научно-медицинской литературе с 1898 по 1953 г. каких-либо сюда относящихся фактов, наблюдений, подозрений, мнений или предупреждений никем не отмечено». Далее автор указал, что «совершенно не исключено, что этот гриб употребляют и многие люди в предраковом периоде и даже при развитии раковой болезни желудка, когда, как правило, в желудочном соке исчезает или же резко снижается свободная соляная кислота, а в этой связи появляется некоторая потребность в "остреньком и кисленьком". Причем эти люди и не подозревают у себя

зачаточность или даже наличие определенной стадии развития тяжелой болезни». А.Ф. Барбанчик считает, что заболевание раком ни в коем случае не вызывается питьем чайного гриба, и всякие толк\* по этому поводу лишены какого-либо основания.

Colleen [151] в статье «Past research on kombucha tea» сообщил о проведенном в 1951 г. Онкологическим исследовательским центром АН России статистическом анализе случаев рака во всех городах и районах бывшего СССР. Доктора Молодыев и Григорьев установили, что там, где применяют чайный гриб, нет раковых заболеваний.

R. Sklenar [216] сообщил о детоксическом действии культуры *Kombucha* и лечебном эффекте культуральной жидкости в сочетании с другими биологическими препаратами при раке. Он указал, что эта жидкость эффективна при подагре и является мощным средством для детоксикации организма.

По сообщению Т.И. Афанасьевой [7, 8], в лаборатории проф. Л.А. Зильбера было проведено исследование препаратов чайного гриба на модели аденокарциномы Эрлиха. Оказалось, что они не угнетали и не стимулировали развитие опухоли.

V. КБЫег [190] в периодическом издании «Medical Practice\*» сообщил о глюконовой кислоте как о натуральном методе лечения рака. Он отметил, что *Kombucha* усиливает иммунную систему и при долговременном употреблении оказывает всестороннее укрепляющее воздействие на организм, повышает синтез интерферона. В конце 50 — начале 60-х годов XX в. ученый мир знал об оздоровительных свойствах чайного гриба и о лечении им рака.

R. Sklenar [216] разрабатывал биологическую терапию рака, в которой *Kombucha* независимо от других биологических средств, как *Coli*-биоген, играет важную роль в восстановлении кишечной флоры. Он доказал, что можно вылечить рак, особенно на первых стадиях.

В Нидерландах Lodewijkx of Ermelo [цит. 213] рекомендует книгу «Жизнь без рака» («Life Without Cancer»). Он считает, что *Kombucha* обладает сильным антисептическим свойством, усиливает элиминацию токсинов и очищает лимфатическую систему. В нем имеется фермент, который является превосходным средством при подагре, ревматизме, бактериозе и особенно при раке (cancer) ранних стадий. Он оказывает сильное влияние на внутриклеточных паразитов, которых выводит из организма.

V. Kohler [89] считает, что *Kombucha* является натуральным средством для больных раком, так как эта культура повышает деятельность иммунной системы и способствует синтезу интерферона.

В 1987 г. V. Carstens [150] сообщила, что чайный гриб (*Kombucha*) -оказывает детоксическое действие на организм, улучшает обмен веществ, тем самым, повышая сопротивляемость организма, и рекомендовала *Kombucha* как натуральное лечебное средство против рака. *Kombucha* очищает организм от токсинов, улучшает его метаболизм и повышает защитные факторы.

В сочетании с другими биологическими препаратами (витамины, молочная и глюкуроновая кислоты) при раке, особенно в первой стадии болезни, Kombucha выводит ГОКСИНЫ из организма.

G.W. Frank [164—166] в своей книге «КотЪиспа», изданной в 1989 г., сообщил историю, связанную с президентом США Рональдом Рейганом, болевшим раком. Президенту была назначена химиотерапия, но когда появились метастазы, он повторно не мог перенести такое лечение. Знаменитые врачи США вспомнили историю болевшего раком А.Н. Солженицына, который лечился культуральной жидкостью чайного гриба. Они обратились к А.Н. Солженицыну, жившему в тот период в США, с просьбой дать информацию о методе лечения рака культуральной жидкостью чайного гриба. А.Н. Солженицын разъяснил, что в период своего пребывания в лагере Для заключенных он болел раком и единственное средство, которое он принимал, была культуральная жидкость чайного гриба. Об этом он подробно пишет в своей автобиографической книге «Раковый корпус» («Cancer Ward»).

Р. Рейгана стали лечить культуральной жидкостью чайного гриба. Ежедневно он принимал 1 л этого напитка. После такого лечения у президента не обнаружили ни раковой опухоли, ни метастазов. В приложении к-кни-ге G. Frank «Kombucha» имеется публикация редактора W. Ennsthaler о книге Розины Фашинг (Rosina Fasching) под названием «Чайный гриб Комбуха» («Tea Fungus

Kombucha»), в которой автор сообщает об успешном лечении доктором медицины Р. Склинером метаболических болезней и карцином культуральной жидкостью чайного гриба в течение 30 лет.

IV. Luree [204] приводит историю лечения больного раком отца. Он принимал 500 мл культуральной жидкости чайного гриба в течение дня, интерферон по 5 мг 3 раза в неделю, витамины А, С, Е и цинк, а также лейкоцина-зин — сильный антиоксидант. Лечение оказалось эффективным. Врачи Канады и Нью-Йорка отрицали наличие рецидивов.

Следует отметить, что количество научно обоснованных работ о свойствах этой культуры малочислены не смотря на широкое применение культуральной жидкости в быту как лекарственного средства. Из изложенного видно, что для биологической оценки культуральной жидкости чайного гриба, безусловно, необходимо всестороннее, систематическое изучение свойств этого организма. Это подчеркивают также популяризаторы культуры чайного гриба [12, 21, 124-127].

Таким образом, данные разных исследователей свидетельствуют о высоком терапевтическом эффекте культуральной жидкости чайного гриба при различных инфекционных процессах и о лечении рака чайным грибом во многих случаях, проведенных эмпирически.

Мы считаем, что изучение чайного гриба необходимо проводить на одном штамме культуры, так как все его ппологические свойства зависят от микробиологического состава симбионтов этой ассоциации, которые в природе неоднородны.

Чайный гриб заинтересовал нас не только как лечебно-диетический продукт, но и как возможный продуцент антибиотических веществ и стимулятор

физиологических процессов организма. Факт, что культуральная жидкость чайного гриба остается прозрачной и не загрязняется постройней микрофлорой в условиях нестерильного его культивирования, указывает на ее антибактериальное свойство. Кроме того, почти неизвестно получение антимикробного вещества из естественных симбионтов. В связи с этим изучение такого биологического объекта представляет большой интерес. Помимо этого, культуральная жидкость чайного гриба, являясь продуктом двух видов брожения т\*- спиртового и уксусно-кислого, возникающих на подслащенном настое чая, может быть использована как диетический продукт, богатый органическими кислотами, ферментами, витаминами и другими активными веществами.

Аналогом такого смешанного брожения являются винный уксус, приготовленный из виноградного сока; яблочный уксус из фруктов; кефир на коровьем молоке; кумыс — напиток, приготовленный на кобыльем или коровьем молоке; чал (шубат) — кисломолочный напиток, полученный из верблюжьего молока в результате спиртового и молочно-кислого брожения. Перечисленные естественные диетические продукты веками использовались в народной медицине. Они не утратили своей ценности и с лечебной целью применяются в клиниках при желудочно-кишечных болезнях, туберкулезе и цинге.

Культуральная жидкость чайного гриба, развившегося на подслащенном настое чая, в отличие от перечисленных кисломолочных продуктов оказывает широкий спектр антибактериального действия и в достаточной степени стимулирует защитные силы организма.

По своим антибактериальным свойствам культуральная жидкость чайного гриба не отличается от антибиотиков, полученных из монокультур в чистом кристаллическом виде, однако не может быть сравнима с ними по своему сложному составу и действию на организм. Она выгодно отличается от них по способности стимулировать жизненно важные функции организма, в частности защитные механизмы, следовательно, отличается и по возможности использования ее при иммунодефицитных состояниях организма. Несмотря на множество фактов, подтверждающих научно-практическую ценность культуральной жидкости чайного гриба, в медицинской практике она все же не получила применения, очевидно, вследствие отсутствия обобщающих, научно обоснованных данных, освещающих культуру чайного гриба.

Имеющиеся в литературе данные, часто противоречивого характера, не дают исчерпывающего научно обоснованного ответа на ряд вопросов, связанных с влиянием культуральной жидкости на жизненные процессы организма, следовательно, и на возможность применения ее в качестве терапевтического средства в медицине.

Следует отметить, что продукт метаболизма чайного гриба используется в основном в народной медицине и практически не применялся в ветеринарии и животноводстве.

Широкое распространение культуры чайного гриба, эмпирическое использование его культуральной жидкости в быту в качестве освежающего напитка и лечебного средства в народной медицине, отсутствие сведений о применении в животноводстве и ветеринарии послужили основанием в 1946—1947 гг. приступить к углубленному и систематическому изучению свойств

культуральной жидкости этой культуры на кафедре микробиологии Ереванского зооветеринарного института (ЕрЗВИ) доцентом Л.Т. Даниелян и проф. Г.А. Шакаряном. Исследовали морфологию и биологию чайного гриба, химический состав культуральной жидкости, ее антибактериальную активность, чувствительность микроорганизмов к культуральной жидкости, ее токсичность, ряд фармакологических и лечебных свойств. Результаты широко поставленных исследований убедили нас в наличии антибактериальных веществ в культуральной жидкости чайного гриба, накопление которых зависит от условий его выращивания. Это позволило в 1950 г. перейти к разработке и выделению активного начала из культуральной жидкости чайного гриба, используя при этом метод адсорбции на различных адсорбентах (Л.Т. Даниелян).

Для выяснения некоторых вопросов и подтверждения полученных фактов по проблеме чайного гриба были привлечены специалисты различных кафедр ЕрЗВИ: ассистент кафедры хирургии Г.П. Маркарян, доцент кафедры физиологии Л.Л. Бадалова, доцент кафедры патологической анатомии Т.Б. Мовсисян, врач ветлечебницы С. Петросян и врач Ереванской первой детской инфекционной клиники им. Тер-Габриеляна Т.А. Аджян.

Под руководством проф. Г.А. Шакаряна и доцента Л.Т. Даниелян защищены 5 диссертаций на соискание степени кандидата ветеринарных наук аспирантами кафедры микробиологии Зооветеринарного института А.Г. Нуразян [93], ассистентом кафедры хирургии Г.П. Маркарян [85], ассистентом А.О. Сукиасян [108, 109], К.В. Шахбазян [132], М. Оганесян [97]. Диссертационные работы являются подтверждением объективности результатов исследований по вопросам биологии, фармакологии и стимулирующих свойств культуральной жидкости чайного гриба, отраженных в научных трудах Л.Т. Даниелян [30—60] и Г.А. Шакаряна [114, 120].

На основании проделанных работ выявлены полезные качества культуральной жидкости чайного гриба, названной нами бактерицидином из-за ее широкого антибактериального спектра действия, а также активного начала, выделенного из нее в кристаллическом виде. Наши исследования проведены на культуральной жидкости одного образца чайного гриба, выращенного на специально разработанной нами питательной среде.

В результате широкого комплексного охвата проблемы и углубленной разработки ее отдельных сторон накоплен большой материал, позволивший сделать обобщенные выводы по проблеме этой культуры.

Ныне совершенствуется методика получения биологически активных веществ из культуральной жидкости чайного гриба.