بررسی اثر ضد میکروبی کفیر بر سودوموناس آئروژینوزا

*گلنار رحیم زاده: دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشکده علوم زیست گروه میکروبیولوژی، تهران، ایران (*نویسنده مسئول). Email: rahimzadehgolnar@yahoo.com

دکتر محمدعلی بهار: دانشیار گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

دکتر نور امیرمظفری: دانشیار گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. Email: amirmozafari@yahoo.com

دکتر میترا صالحی: استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، دانشکده علوم زیست گروه میکروبیولوژی، تهران، ایران.

* این مقاله قسمتی از پایان نامه گلنار رحیم زاده برای دریافت درجه کارشناسی ارشد میکروبیولوژی است.

تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۵ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۱/۱۱

چکیده

زمینه وهدف: کفیر یک پروبیوتیک کمپلکس می باشد که مبدأ آن شمال قفقاز است. به طور کلی دانه های کفیر دارای میکروارگانیسم هایی نظیر استرپتوکوکسی های اسید لاکتیک،لاکتوباسیل های مزوفیلیک اسید لاکتیک،مخمرهای تخمیر کننده و غیر تخمیر کننده لاکتوز و باکتری های اسید استیک است که به اثرات درمانی آن ها اشاره شده است. این مطالعه تجربی به منظور بررسی اثرات ضد باکتریایی کفیر بر سودوموناس آئروژینوزا انجام گرفته است.

روش کار: در این مطالعه تجربی تاثیر کفیر بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیمار دچار سوختگی و سودوموناس آئروژینوزا استاندارد (ATCC 27853American Type Culture Collection) مورد ارزیابی قرار گرفت. بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره های کفیر در دو زمان تخمیر ۴۸ و ۷۲ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس، با روش های دیسک پلیت و چاهک و بررسی کینیتیک مرگ به صورت *in vitro* در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. جهت تعیین کمترین غلظت از ماده ضد میکروبی (Minimum Inhibitor Concentration: MIC) که از رشد باکتری پس از ۲۴ ساعت ممانعت می‌نماید از روش های رقت لوله ای و کدورت سنجی استفاده شد. جهت تعیین درصد اسیدهای آلی از روش کروماتوگرافی با فاز معکوس Performance (High Liquid Chromatography: HPLC) با ستون C18 استفاده شد. جهت تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS 10 استفاده و با آزمون آماری دانکن میانگین تیمارها مقایسه شد.

یافته ها: در این مطالعه تجربی، بیش‌ترین اثر ضد میکروبی عصاره کفیر در دمای ۳۵ درجه سلسیوس با ۴۸ ساعت زمان تخمیر و غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در میلی لیتر روی سودوموناس آئروژینوزا استاندارد (ATCC 27853) و سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیمار سوخته بدست آمد.

نتیجه‌گیری: عصاره کفیر دارای اثرات ضد میکروبی بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا استاندارد (ATCC27853) و سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیمار سوخته می باشد.

واژه های کلیدی: ۱) اثرات ضد میکروبی، ۲) کفیر، ۳) سودوموناس آئروژینوزا

مقدمه

علی رغم پیشرفت ها در زمینه کنترل و درمان زخم‌های سوختگی و وجود مراقبت های ویژه برای این بیماران، عامل اصلی مرگ و میر در بیماران دچار سوختگی، عفونت است[۱و۲]. کنترل عفونت زخم یکی از مشکلات اساسی هر بخش سوختگی است و هر سال تعداد زیادی از بیماران سوخته در اثر این ضایعه جان خود را از دست داده و یا ناتوانی پیدا می کنند. سوختگی نه تنها باعث صدمه شدید پوستی می شود بلکه محیط و شرایط مناسبی را برای رشد و نمو فلور میکروبی و سایر باکتری ها فراهم می آورد[۳و۴].

در اثر سوختگی شدید زخم های عفونی ناشی از باکتری های غیر معمول و یا سپتی سمی تهدید کننده زندگی پدید می آید[۵و۶]. سودوموناس آئروژینوزا معمول‌ترین عامل عفونت است[۷و۸] و بعد از آن به ترتیب استافیلوکوک طلایی، انتروباکتریاسه و سایر گرم منفی‌ها و گرم مثبت ها سویه های جدا شده را تشکیل می‌دهند[۸].

افزایش مقاومت این باکتری ها به آنتی بیوتیک ها

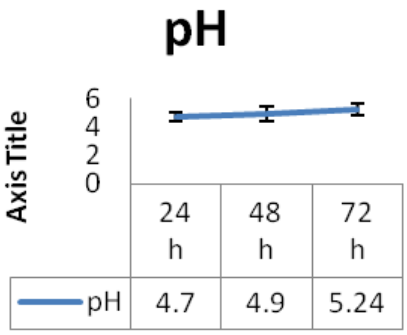
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

مسایل مهم و جدی در درمان و کنترل عفونت را در میان بیماران دچار سوختگی مطرح می کند[۹]. باکتری سودوموناس آئروژینوزا باسیل گرم منفی است که کلنی با رنگ فلئورسانت سبز با بوی آمیل الکل تولید می نماید. این باکتری با توجه به سیستم های خاص درونی خود از جمله سیستم انتقال مقاومت به آنتی بیوتیک (پلاسمید) به سرعت در مقابل آنتی بیوتیک های مختلف مقاوم شده و باعث انتشار عفونت و سپتی سمی در بدن بیماران خواهد شد. استفاده از وسایل هیدروتراپی و لگن های شستشوی آلوده همگی منابعی هستند که این ارگانیسم از آن ها جدا شده است.از جمله راه های مبارزه با عفونت های ناشی از سودوموناس آئروژینوزا استفاده از آنتی بیوتیک های مخصوص ضد سودوموناس آئروژینوزا و تعویض مکرر آن ها هر ۱ یا ۲ سال است. زیرا این باکتری به سرعت به آنها مقاوم می شود. راه حل دیگر استفاده از آنتی بیوتیک موضعی و برداشتن زودرس زخم و پانسمان های مکرر می باشد[۱۰]. جهت تقویت سیستم ایمنی و جلوگیری از عفونت باکتریایی در سوختگی، ترکیبی به نام کفیر مورد توجه است.این ماده نه تنها خاصیت ضد میکروبی داشته بلکه سبب تسریع روند بهبودی و ترمیم زخم سوخته نیز می گردد[۱۱]. کفیر نوعی نوشیدنی است که از تخمیر لاکتیک – الکلی شیر بدست می آید و منشا آن کوه های قفقاز در روسیه می باشد. کفیر امروزه در بسیاری از مناطق دنیا تهیه می شود ولی بالاترین میزان تولید و مصرف آن در روسیه می باشد. در حال حاضر مشخص گردیده است که میکروارگانیسم های موجود در دانه های کفیر شامل باکتری‌های لاکتیک و باکتری های استیک و مخمرها بوده که بعنوان مایه در تهیه کفیر مورد استفاده قرار می گیرند. باکتری‌های لاکتیک بطور کلی باسیل ها (مزوفیل وترموفیل)، استرپتوکوک های لاکتیک و لوکونوستوک را شامل می شوند. مخمرها نیز از نظر تکنولوژی به دو گروه مخمرهای تخمیر کننده لاکتوز و مخمرهایی که قادر به تخمیر لاکتوز نیستند، طبقه بندی می شوند[۱۲-۱۵].در سال های اخیر خواص تغذیه‌ای و درمانی فرآورده‌های تخمیری شیر، از جمله کفیر مورد بررسی قرار گرفته است.این بررسی ها نشان می دهد که تاثیر مایه کشت های بکار برده شده علاوه بر تولید اسید لاکتیک و ترکیبات مولد عطر و طعم ایجاد یکسری تغییرات می باشد که باعث افزایش ارزش تغذیه ای و درمانی در محصولات تخمیری شیر می‌گردد. در تولید عوامل ضد میکروبی، آنتی بیوتیک های طبیعی، تولید انواع ویتامین ها، آنزیم ها، کمک به جذب مواد غذایی، عامل ضد کلسترولی و کاهش سطح چربی با دانسیته پایین (Low Density lipid: LDL)، چربی با دانسیته خیلی پایین (Density lipid Very Low: VLDL) خون، عامل ضد سرطانی، درمان و پیشگیری از زخم‌معده، اسهال، عفونت ناشی از هلیکوباکتر پیلوری، بیماری‌های التهابی روده، یبوست، بیماری روده ای وابسته به کلستریدیوم دیفیسیل، استفاده می شود. برای این منظور اولین بار در ایران در سالهای ۷۳-۱۳۷۲ اقدام به جداسازی دانه های کفیر و خالص سازی و شناسایی سویه های میکروبی موجود در دانه های کفیر شده است. pH این فرآورده اغلب ۴.۴-۴.۳ است [۱۶-۱۹]. در تولید عصاره کفیر، دانه کفیر مورد استفاده قرار می‌گیرد. دانه کفیر متشکل از پروتیین و پلی ساکارید و مخلوطی از چند میکروارگانیسم شامل مخمرها و باکتری های لاکتیک می باشند. این دانه ها که زرد رنگ هستند به عنوان مایه کفیر مورد استفاده قرار می‌گیرند. در طی فرایند تخمیر باکتری های لاکتیک موجود در دانه های کفیر، اسید لاکتیک و مخمرها الکل و دی اکسید کربن تولید می‌نمایند. مقادیر اسید لاکتیک، الکل و دی اکسید کربن موجود در کفیر با زمان و درجه حرارت گرما گذاری کنترل می‌گردد[۲۰]. با توجه به گزارشات سال های اخیر مبنی بر افزایش مقاومت باکتری سودوموناس آئروژینوزا نسبت به آنتی بیوتیک‌های رایج که مساله مهم و جدی در درمان و کنترل عفونت را در میان بیماران دچار سوختگی مطرح می‌کند، این مطالعه به منظور آگاهی از اثر ضد میکروبی کفیر و اثرات درمانی آن بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا صورت گرفته است.

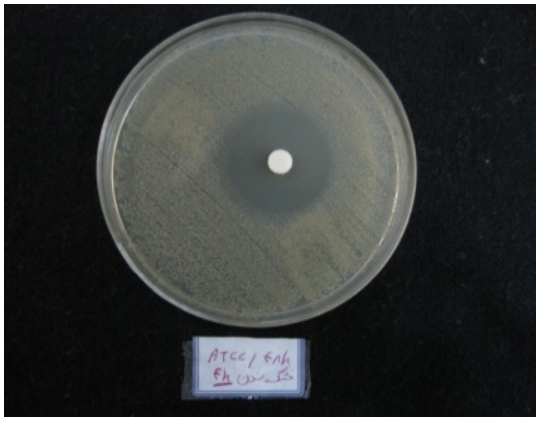
روش کار

در این مطالعه تجربی، جهت تهیه عصاره کفیر، دانه‌های کفیر (۵۰ گرم) به طور متوالی در ۱۰۰ میلی لیتر محیط MRS براث به مدت ۴ روز در شرایط بی هوازی و در دمای ۳۵ درجه سلسیوس گرما گذاری شدند. محیط MRS براث در هر ۲۴ ساعت تعویض گردید[۲۱]. سپس محلول رویی به مدت ۲۰ دقیقه با سانتریفوژ دور ۱۰۰۰rpm× ۶، سانتریفوژ گردید و سپس با گذراندن از فیلترمیلی پور ۰/۲ میکرون، عاری از هر گونه باکتری

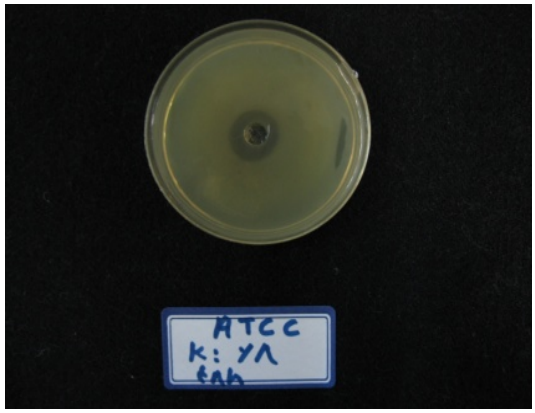
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]



نمودار شماره ۱- pH عصاره کفیر در دو زمان متفاوت تخمیر (۷۲،۴۸ ساعت)



شکل۱. هاله عدم رشد عصاره کفیر حاصل از ۴۸ ساعت تخمیر در روش دیسک پلیت



شکل۲. هاله عدم رشد عصاره کفیر حاصل از ۴۸ ساعت تخمیر در روش چاهک

گشت. میزان pH عصاره ها طی زمانهای مختلف تخمیر (۴۸، ۷۲ ساعت) با دستگاهpH سنج دیجیتالی بررسی گردید که در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است.

بررسی اثرات ضد میکروبی، توسط روش های دیسک پلیت، چاهک، کدورت سنجی و رقت لوله‌ای جهت تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد(MIC) و حداقل غلظت کشنده رشد (MBC) انجام شد. کینیتیک مرگ نیز بررسی گردید. در روش دیسک گذاری و چاهک ابتدا مایه میکروبی با کدورت نسبی معادل ۰/۵ مک فارلند (۱ /۵×۱۰^۸CFU/mL) غلظتی که از کلریدباریم و اسیدسولفوریک ساخته می شود و با روش کدورت سنجی براساس جذب نوری که بدست می آید بطور استاندارد تعداد باکتری بر حسب CFU/mL شمارش می‌شود. تهیه شد، سپس از این مایه میکروبی به صورت متراکم روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد و دیسک ها که محتوی عصاره کفیر بود در سطح پلیت قرار داده شد. در روش چاهک با پیپت پاستور استریل چاهکی به قطر ۶ میلی متر حفر و عصاره کفیر درون آن تلقیح شد. سپس پلیتها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرما گذاری و هاله عدم رشد بعد از ۲۴ ساعت بررسی گردید[۲۱](شکل ۱و۲). درروش رقت لوله‌ای، در۱۰ عدد لوله استریل درب دار به میزان ۹ سی‌سی محیط مولر هینتون براث (M.H.B) ریخته و به لوله اول ۱ سی سی عصاره کفیر حاصل از دو زمان مختلف تخمیر (۴۸، ۷۲ ساعت) را اضافه کرده سپس یک میلی لیتر از لوله شماره ۱ به لوله شماره ۲ اضافه شد و این عمل تا لوله شماره ۹ تکرار گردید. سپس جداگانه سوسپانسیون میکروبی شامل باکتری سودوموناس آئروژینوزا سویه استاندارد (ATCC 27853) و نمونه جدا شده از بیمار دچار سوختگی معادل ۰/۵ مک فارلند به مقدار ۱۰۰میکرولیتر به تمام لوله ها اضافه شد ودر نهایت لوله ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به منظور بررسی کمترین غلظت (MIC)که مانع رشد باکتری می شود و کمترین غلظت که موجب مرگ باکتری (MBC) می‌شود گرماگذاری شدند[۲۱] (جدول ۱).

در روش کدورت سنجی، میزان جذب عصاره سانتریفوز شده کفیر پس از گذشت زمان ۴۸ و ۷۲ ساعت تخمیر بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا سویه استاندارد (ATCC 27853) و نمونه جدا شده از بیمار دچار سوختگی با طول موج ۵۳۰ نانومتر نیز بررسی شد[۲۱] (جدول ۲). بر اساس روش مهمترین روش جهت خالص سازی باکتریها و همچنین جهت شمارش تعداد کلنی باکتری که روش پورپلیت نامیده می شود (Pour plate) کینیتیک مرگ بررسی شد. این روش تا ساعت هفت هر

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

جدول شماره۱: MIC و MBC عصاره ها ی کفیر در دو زمان ۴۸ و ۷۲ ساعت تخمیر برحسبmg/ml

نوع عصاره کفیر / نوع باکتری	عصاره کفیر حاصل ازتخمیر در دمای ۳۵ درجه سلسیوس با زمان ۴۸ ساعت تخمیر		عصاره کفیر حاصل ازتخمیر در دمای ۳۵ درجه سلسیوس با زمان ۷۲ ساعت تخمیر	
	MIC	MBC	MIC	MBC
سودومو ناس آئروژنوزا استاندارد(ATCC 27853)	۲۵۰ mg/ml	۲۵۰ mg/ml	ــــــ	ــــــ
سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیمار دچار سوختگی	۲۵۰ mg/ml	۲۵۰ mg/ml	ــــــ	ــــــ

علامت (---) بدین معناست که در زمان تخمیر بکار رفته اثر ضد میکروبی دیده نشد.

جدول شماره ۲: میزان جذب نوری سوسپانسیون میکروبی در طول موج ۵۳۰ nm

عصاره های کفیر حاصل از زمان های مختلف تخمیر	سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیمار دچار سوختگی	سودومو ناس آئروژنوزا استاندارد(ATCC27853)
عصار ه کفیر حاصل از زمان ۴۸ ساعت تخمیر	۰/۴۳±۰/۰۳C	۰/۴۲ ±۰/۲c
عصار ه کفیر حاصل از زمان ۷۲ ساعت تخمیر	۰/۹۵ ±a۰/۰۳	۰/۵۹ ±۰/۰۰۸A

ستون ها با حروف غیر مشترک اختلاف معنی داری دارند($p<۰/۰۵$)

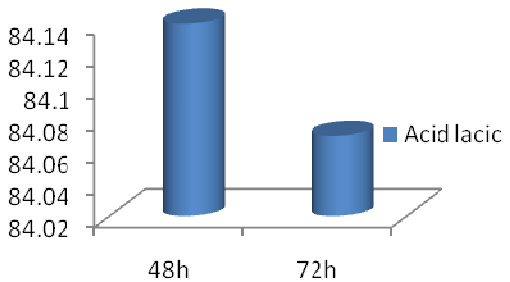
یک ساعت یکبار تکرار شد. در۱۰ عدد لوله استریل دربدار به میزان ۹ سی سی سرم فیزیولوژی ریخته شد و سپس به لوله اول ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری معادل ۰/۵ مک فارلند اضافه شد و از لوله اول ۱ میلی لیتر به لوله دوم اضافه شد و این عمل تا لوله شماره ۹ تکرار گردید[۲۱]. جهت مشخص کردن درصد اسیدهای آلی، از جمله اسید لاکتیک و اسید استیک حاصله از تخمیر کفیر از روش HPLC با فاز معکوس با ستون C18 استفاده شد (نمودار۲).

در تمامی روش های ذکر شده، جهت تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS 10 استفاده و با آزمون آماری دانکن میانگین تیمارها مقایسه شد.

یافته ها

نتایج جدول آنالیز واریانس مربوط به قطر هاله عدم رشد در روش دیسک پلیت در باکتری سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیمار دچار سوختگی و باکتری سودوموناس آئروژینوزا (ATCC27853) حاکی از بسیار معنی دار شدن اثر تیمار می باشد ($p<۰/۰۰۰۱$). نتایج جدول مقایسه دانکن حاکی از آن است که بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به عصاره کفیر حاصل از۴۸ ساعت تخمیر، ۱/۸۸ ±۱۳/۶۵ گزارش شد. کمترین قطر هاله عدم رشد مربوط به عصاره کفیر حاصل از ۷۲ ساعت تخمیر بود که در واقع هیچ هاله عدم رشدی مشاهده نشد و قطر هاله عدم رشد مربوط به عصاره کفیر حاصل از ۷۲ ساعت تخمیر با گروه قبل به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$) (شکل ۱).

نتایج جدول آنالیز واریانس مربوط به قطر هاله عدم رشد در روش چاهک در باکتری سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیمار دچار سوختگی و باکتری سودوموناس آئروژینوزا استاندارد (ATCC27853) حاکی از بسیار معنی دار شدن اثر تیمار می باشد ($p<۰/۰۰۰۱$). نتایج جدول آزمون مقایسه میانگین دانکن حاکی از آن است که بیش ترین قطر هاله عدم رشد مربوط به عصاره کفیر



نمودار۲- درصد اسید لاکتیک تولید شده در دو زمان تخمیر(۴۸و ۷۲ ساعت)

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

حاصل از ۴۸ ساعت تخمیر، ۱.۳۶±۱۴گزارش شد. کم ترین قطر هاله عدم رشد مربوط به عصاره کفیر حاصل از ۷۲ ساعت تخمیر بود که در واقع هیچ هاله عدم رشدی مشاهده نشد و قطر هاله عدم رشد مربوط به عصاره کفیر حاصل از ۷۲ ساعت تخمیر با گروه قبل به طور معنی‌داری کاهش یافت($p<۰/۰۵$) (شکل ۲).

نتایج مربوط به اندازه‌گیری حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) و متعاقب آن حداقل غلظت کشنده رشد (MBC) نشان داد که عصاره کفیر فیلتر شده در دمای ۳۵ درجه سلسیوس در زمان ۷۲ ساعت تخمیر اثر ضد میکروبی با غلظت ۲۵۰ میلی گرم در میلی لیتر بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا نداشت، در حالی که عصاره کفیر فیلتر شده در دمای ۳۵ درجه سلسیوس در زمان ۴۸ ساعت تخمیر اثر ضد میکروبی با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا داشت به طوری که حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) برابر ۲۵۰ میلی گرم در میلی لیتر بود و پس از ۲۴ ساعت حداقل غلظت کشنده رشد (MBC) نیز ۲۵۰ میلی‌گرم در میلی لیتر گزارش گردید (جدول ۱).

نتایج حاصل از جدول آنالیز واریانس مربوط به میزان تراکم باکتری سودوموناس آئروژینوزا جدا شده از بیمار دچار سوختگی و باکتری سودوموناس آئروژینوزا (ATCC7853) حاکی از بسیار معنی دار شدن اثر تیمار می باشد($p<۰/۰۰۰۱$). نتایج آزمون مقایسه میانگین دانکن حاکی از آن است که عصاره کفیر حاصل از ۴۸ساعت تخمیر بیش ترین اثر ضد میکروبی را داشت چون کم ترین جذب را نشان داد. به این معنا که باکتری سودوموناس آئروژینوزا کم‌ترین میزان رشد را داشته است. کم ترین اثر ضد میکروبی مربوط به عصاره کفیر حاصل از ۷۲ ساعت تخمیر بود. گروه ها تفاوت معنی‌داری را با یکدیگر نشان دادند($p<۰/۰۵$) (جدول ۲).

در بررسی کینیتیک مرگ با توجه به این که غلظت باکتری در ساعت صفر ($۱۰^۶$ CFU/mL) بود، با دستگاه کلنی کانت تعداد باکتری های پاتوژن شمارش شدند. نتایج نشان داد که پس از هر یک ساعت تعداد باکتری پاتوژن به میزان log ۱ کاهش داشته. نتایج آزمون مقایسه میانگین دانکن حاکی از آن است که در عصاره کفیر حاصل از ۴۸ ساعت تخمیر بیش ترین درصد اسیدلاکتیک تولید شده و این درصد تولید در عصاره کفیر حاصل از ۷۲ ساعت تخمیر به طور معنی داری کاهش یافت($p<۰/۰۵$). تولید اسیدلاکتیک در کفیر حاصل از ۷۲ ساعت تخمیر کمتر از عصاره ۴۸ساعت تخمیر بود (نمودار ۲).

بحث و نتیجه گیری

طبق نمودار ۱ طی تخمیر کفیر در زمان ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس اسید بیشتری تولید و در نتیجه کاهش pH دیده شد. افزایش اسیدیته حاصل در طی فرآیند تخمیر کفیر سبب افزایش اثرات ضد میکروبی عصاره کفیر شده چرا که با توجه به داده های جدول ۲ در روش کدورت سنجی کاهش جذب و افزایش اثر ضدمیکروبی عصاره کفیر پس از ۴۸ ساعت تخمیر نتیجه می شود. هم چنین با توجه به داده‌ها مشاهده شد که طی فرآیند تخمیر استارتر کفیر در دمای ۳۵ درجه سلسیوس با زمان ۷۲ ساعت تخمیر pH افزایش یافت که در نهایت افزایش جذب در روش کدورت سنجی مشاهده و کاهش اثر ضد میکروبی عصاره کفیر پس از ۷۲ ساعت تخمیر نتیجه می‌گردد.

بر اساس گزارشات تبدیل لاکتوز به اسیدلاکتیک با کاهش pH سوبسترا سبب کنترل باکتری های پاتوژن می شود[۲۲]. طبق آزمایشات، نشان داده شد با مصرف کفیر در محیط معدی – روده ای، غلظت کل اسید معدی افزایش می یابد و اثرات ضد میکروبی بیش تری بر روی میکروارگانیسم های بیماری زا دارد و چنانچه بجای شیره معدی، سرم فیزیولوژی به کار رود این اثر کم می‌شود[۲۳]. در این بررسی اثر ضد میکروبی عصاره کفیر در روش دیسک پلیت و چاهک با توجه به شکل های ۱ و ۲ مشخص شد که در روش چاهک پلیت عصاره کفیر در زمان تخمیر ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس، دارای هاله عدم رشد با قطری معادل ۱۴ میلی متر و برای عصاره کفیر در زمان تخمیر ۷۲ ساعت تخمیر در همین دما هاله عدم رشد مشاهده نشد، که بیانگر درصد بیش تر اسیدهای آلی از جمله اسید لاکتیک و اسید استیک در عصاره کفیر زمان تخمیر ۴۸ ساعت و اثر بیش تر ضد میکروبی آن می باشد. بر اساس مطالعه ای علاوه بر حضور اسیدهای آلی در عصاره کفیر که باعث افزایش اثر ضد میکروبی بیش تر کفیر می شود، می‌توان به حضور باکتریوسین و پراکسید هیدروژن اشاره نمود که خاصیت ضد میکروبی دارا هستند[۲۴]، ازجمله این باکتریوسین‌ها می‌توان به نایسین و لاکتوکوکسین

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

A که از لاکتوباسیل لاکتیس بدست آمده، همچنین به میکروسین که از لاکتوباسیل کازئی جدا شده اشاره نمود. در حال حاضر از بین ترکیبات فوق نایسین تنها باکتریوسین خالص شده برای استفاده در فرآورده های مورد مصرف انسان است). در مطالعه دیگری با استفاده از استارترهای مختلف در تهیه عصاره کفیر مشخص شد که باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم تولید ماده ضد میکروبی لاکتین کرده و در جهت کنترل رشد اشرشیاکلی و مایکوباکتریوم توبرکلوزیس و باسیلوس سوبتیلیس به کار می رود [۲۵]. در گزارشی بعضی متابولیت ها با فعالیت باکتریوسیدال به نام باکتریوسین در بعضی از گونه های هموفرمانته و هتروفرمانته مانند استرپتوکوکسی لاکتیس و بعضی گونه های کریموریس ایجاد می شود. تولید باکتریوسین در طول ۴۸-۲۴ ساعت اول سریع تر است چرا که بعد از این مدت توانایی کم‌تری در غیرفعال ساختن باکتریوفاژها دارد[۲۶]. بررسی‌ها نشان داده که لاکتوباسیل ها و یا محصولات متابولیک آن ها در پیشگیری از عفونت و یا به تاخیر انداختن کلونیزه شدن مخاط گوارش با هلیکوباکترپیلوری موثر هستند و مشخص شده است که به تولید اسیدهای آلی، اسیدهای چرب آزاد، آمونیاک، اتانول، هیدروژن پراکساید، باکتریوسین ها مربوط می باشد[۲۵].

در مطالعه ای با استفاده از روش چاهک نشان دادند که مخلوط شیر تخمیر شده شامل لاکتوباسیلوس کازئی رشد پاتوژن های روده ای از جمله شیگلا دیسانتری (۸mm) و سالمونلا تیفی موریوم (۹ mm) و اشریشیاکلی(۸/۲ mm)را مهار می سازد. در غذاهای حاوی این میکروارگانیسم ها، pH کاهش می یابد و می‌تواند از ایجاد اسهال در موش جلوگیری نماید[۲۷]. در مطالعه دیگری در مقایسه‌ای که بین عصاره کفیر و آنتی بیوتیک جنتامایسین صورت گرفت، دیده شد که قطر ناحیه عدم رشد عصاره کفیر ۳۷ درجه سلسیوس و زمان تخمیر ۴۸ ساعت (با غلظت ۳۰۰ میلی گرم در میلی لیتر) بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا برابر ۱۴ میلی متر بود که تقریبا معادل ۹ میکروگرم در میلی لیتر سولفات جنتامایسین می باشد[۲۸].

درشرایط تخمیر استارتر کفیر با دمای ۳۵ درجه سلسیوس و زمان ۴۸ ساعت MIC=MBC بوده و میزان آن ۲۵۰ میلی گرم درمیلی لیتر می باشد، از طرفی جذب نوری عصاره کفیر در روش کدورت سنجی در طول موج ۵۳۰nm برای باکتری سودوموناس آئروژینوزا سویه استاندارد(ATCC 27853) برابر ۰/۴۴nm و نمونه جدا شده از بیمار دچار سوختگی برابر ۰/۴nm می باشد، که یکی از دلایل آن حضور اسیدهای آلی از جمله اسید لاکتیک و اسید استیک که درصد آن ها با روش HPLC ثابت گردید ودر نتیجه حضور اسیدهای آلی ازجمله اسیدلاکتیک و اسیداستیک که سبب افزایش اثرات ضد میکروبی عصاره کفیر شده و کاهش جذب را نشان می دهد. در شرایط تخمیر استارتر کفیر با دمای درجه سلسیوس و زمان ۷۲ ساعت اثر ضد میکروبی مشاهده نشد و جذب نوری عصاره کفیردر روش کدورت سنجی با طول موج ۵۳۰nm برای باکتری سودوموناس آئروژینوزا سویه استاندارد (ATCC 27853) برابر ۰/۵۹nm و نمونه جدا شده از بیمار دچار سوختگی برابر ۰/۵۵nm به دست آمد. طبق نتایج حاصله از روش HPLC فاز معکوس با ستون C18، با توجه به این که اسیدلاکتیک در شرایط دمای ۳۵ درجه سلسیوس و زمان ۷۲ ساعت تولید شده ولی اسید استیک تولید نشده بود، خاصیت ضد میکروبی اسیداستیک از اسیدلاکتیک بیش‌تر می باشد و اسیدلاکتیک به تنهایی اثر ضد میکروبی نداشته و در کنار اسید استیک خاصیت ضد میکروبی آن افزایش می یابد و این بیانگر علت افزایش جذب نوری عصاره کفیر در روش کدورت سنجی با طول موج ۵۳۰nm برای باکتری سودوموناس آئروژینوزا سویه استاندارد (ATCC 27853) و نمونه جدا شده از بیمار دچار سوختگی و کاهش اثر ضد میکروبی آن می باشد. کفیر ۲۴ ساعته ۰/۲درصد، ۴۸ ساعته ۰/۴درصد، ۷۲ساعته ۰/۶درصد الکل داشت. با توجه به یافته های مطالعات انجام شده نشان داده شد که با افزایش دما و زمان تخمیر، جذب نوری عصاره برای سودوموناس آئروژینوزا که حداقل ۰/۳۸ بوده است به ترتیب برای سالمونلا و اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس برابر با ۰/۴۳، ۰/۴۸ و۰/۵۱ می باشد که علت آن می تواند افزایش اسیدیته حاصل در کفیر باشد که سبب افزایش اثرات ضدمیکروبی آن شده و کاهش جذب را نشان می دهد [۲۸]. در مطالعه ای که بر روی لاکتوباسیلوس سالیواریوس انجام گرفت با توجه به تولید مقادیر قابل توجه اسیدلاکتیک، اثر مهار کنندگی بر رشد هلیکوباکترپیلوری داشته است [۲۹]. در مطالعه‌ای گزارش شد که مصرف محلول روی کشت لاکتوباسیلوس

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

فرمنتـــوم و لاکتوباســـیلوس کـــازئی و لاکتوباســـیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس لاکتیس اثر باکتریسـیدای بر ضد طیف وسیعی از باکتری های گـرم مثبـت و گـرم منفی پاتوژن ایجاد می کند[۳۰]. با آزمایشات انجـام شـده مشخص شد کـه افـزایش دمـا و زمـان تخمیـر، قـوام و ویسکوزیته ماست های حاصله را افزایش می دهد[۳۱]. لذا با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه می توان از اثر باکتریوسیدی و خاصیت ضد میکروبـی عصـاره کفیـر جهت از بین بردن باکتری سودوموناس آئروژینوزا استفاده کرد.

فهرست منابع

1- Howard PA, Cancio LC, Mcmanus AT. What New in burn associated infections? Curr surg.1999; 56:397-405.

2- Ravathi G, Puri J, Jain BK. Bacteriology of burns.Burns.1998; 24(4):347-249.

3- Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical Microbiology. 4th ed. Philadelphia: Mosby, 2002;pp:78-81.

4- Still j, Law E, Friedman B, Fuhrman S, Newton T. Vancomycin-resistant organisms on a burn unit. South Med J.2001; 94(8):810-2.

5- Bang RL,Gang RK,Sanyal SC, Mokaddas E, Ebrahim MK. Burn Septicemia: an analysis of 79 patients Burn. Burns.1998;24:354-361.

6- Blot SI, Hoste EA. Staphylococcal septicemia in burns.Burns.2001;27(2):203.

7- Mcmanus AT, Mason AD, Mcmanus WF. Twenty- five years review of pseudomonas aeruginosa bacteremia in a burn center. Eur J Clin Microbial ,1985;4:219-33.

8- Song W, Lee KM, Kang HJ, Shin DH, Kim DK. Microbiologic aspects of predominant bacteria isolated from the burn patients in Korea. Burns. 2001;27(2):136-9.

9- Li J, Zeng H, Xu X. A study of methicillin resistant staphylococcus aureus(MRSA) in a burn unit with repetitive-DNA-sequence-based PCR fingerprinting. Zhonghua Shao Shang Za Zhi. 2001; 17(2):88-90.

10- Tredget E, Shankowsky HA, Joffe AM, Dobke M, Mcdonald JC. Epidemiology of infections with pseudomonas aeroginosa in burn patients: the role of hydrotherapy. Clin infect Dis.1992;15(6):941-949.

11- Kamil LR, Lucelia R G, Carlos T C, Joao E. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefiran extract.International Journal of Antimicrobial Agents. 2005; 25: 404-408.

12- karoline R, Silva, Sheila A, Rodrigues L, Xavier F, Alvaro S. Antimicrobial activity of broth fermented with kefir grains.Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2009;24: 316-352.

13- Santos A, San M, Sanchez A, Torres J M, Marquin D. The antimicrobial properties of different strains of Lactobacillus spp. isolated from kefir. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2009; 48:434-437.

14- Gultekin A, Mete C, Ibrahim D, Feyyaz O, Hilmi Y, Mahmuut S. Effect of topical kefir application on open wound healing an invivo study. London Elsevier. 2005: 43-47.

15- Gabreil V, Gabriela P, Jairo D T, Edward F, Ghantal M. Effects of kefir fractions on innate immunity. London Elsevier. 2006:149-156.

16- Bertolami MC, Faludi AA, Batloulni M. Evalution of the effects of a new fermented milk product (Gaio) on primary hypercholesterolemia. Eur. J. Clin. Nutr. (1999) ;53(2): 97-101.

17- Kontiokari T, Latinen J, Jarv L, Pokka T, Sundqvist K, Uhari M. Dietary factors protecting woman from urinary tract infection. Am. J. Clin. Nutr.(2003); 77(3): 600-604.

18- Laiho K, Hopp U, Ouwehand AC, Salminen S, Isulauri E .Probiotics: On-going reaearch on atopic individuals. Br. J. Nutr. (2002) ;88: 19-27.

19 - Rechelsen B. Kristensen K, Pedersen SB. Long-term consumption of fermental dairy products over 6 months increases HDL cholesterol. Eur. J. Clin. Nutr. (1996); 56(9): 843-49.

20- Robinson R.K. Therapeutic properties of fermented Milks. London Elsevier.1991:22-25

21- Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test: approved standard M2-A6. 6th ed. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS); 2002.

22- Wong N. Fundamental of dairy chemistry. The AVI pub-co.1988;49:673-92.

23- Evenshtein E. Use of Keffir for stimulation of gastric secretion. prob1 Tuberk.1978;2:824.

24- Ogunbonwo ST, Sanni AI, Onilude AA. Characterization of bacteriocin produced by Lactobacillus plantarum F1 and Lactobaciillus berevis OG1. African Journal of Biotechnology. 2003

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

2.(8): 219-227.

25- Kandler O ; Nobert Weiss: Bergey's Manual of systematic Bacteriology. 1989. Vol.2: sec.14. :1208-1234.

26- Rehm J, Reed A.Food product with microorganisms. Biotechnology ,Vol 5;1983:342-359.

27- Tamime A, Robinson R. Nutritional value of yoghurt. Journal of Dairy scince and technology. 1999; 1: 365-369.

28 -Kermanshahi K.R, Moatar F, Shadzi Sh, Mahdavi M. Antimicrobial and antifungal effects Kefir in vitro, Journal of Babol University of Medical Sciences. 1380; (12): 21-22.Persion.

29- Nitisinprasert V, Nilphai P, Bunyun P, Sukyai K, Sonomoto DK. Screening and identification of effective thermotolerantLactic Acid Bacteria producing antimicrobial activity against Escherchia coli and Salmonella sp. Resistant to Antibiotic,Kasetsart J. 2000; 34: 387-400.

30- Coconnier MH, Liévin V, Hemery E, Servin AL. Antagonistic activity against Helicobacter infection in vitro and in vivo by the human Lactobacillus acidophilus strain LB. Appl Environ Microbiol. 1998; 64 : 4573-4580.

31- Webb H.By products from milk. The AVI pub Co.1970;pp:34-6.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

Original Article

Antimicrobial activity Kefir on Pseudomonas aeruginosa

***G. Rahimzadeh,** MSc Student of Microbiology**,** Islamic Azad University, Oloom va Tahghighat Branch, Tehran, Iran. (*Corresponding author). Email: rahimzadehgolnar@yahoo.com
M.A. Bahar, PhD. Associate Professor of Immunology, Tehran University of Medical Sciences (TUMS), Tehran, Iran.
N. Amir Mozafari, PhD. Associate Professor of Microbiology, Tehran University of Medical Sciences (TUMS), Tehran, Iran. Email: amirmozafari@yahoo.com
M. Salehi, PhD. Assistant Professor of Microbiology, Islamic Azad University, Oloom va Tahghighat Branch, Tehran, Iran.

**The article is extracted from Golnar Rahimzadeh Dissertation for the degree of MSc of Microbiology.*

Abstract

Introduction: Kefir is a probiotic mixture of bacteria and yeast originating from Qafqaz region. The Kefir grain contains both Lactic acid bacteria (Lactobacillus,Lactococcus,Leuconostoc,Acetobacte and Streptococcus spp.) and yeast (Kluyveromyces, Torula, Candida and Saccharomyces spp.). Kefir is claimed to have therapeutic effect. This study looked at the antimicrobial activity of Kefir on Pseudomonas aeruginosa**.**

Methods: The antimicrobial activity of Kefir extract were determined on Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853) and on those isolated from burned patient. Effect of antibacterial extracts Kefir fermentation time in both 48 and 72 hours at a temperature of 35 degrees Celsius were determined with the disk plate and well test in vitro. The MIC was defined as the lowest antimicrobial concentration able to completely inhibited bacterial growth up to 24 h. MIC values were determined by microdilution method. The lactic acid contents of the Kefir extracts were determined by reverse-phase HPLC (high performance liquid chromatography)**.**

Result: The result showed that the highest antimicrobial activity of Kefir extract on Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853) and the burned patient isolation, ranged from 250 mg/mL(MIC) to 250 mg/mL(MBC) on time 96h.

Discussion: The Kefir extract showed significant antimicrobial activity on Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853) and the clinical isolate of Pseudomonas aeruginosa.

Keywords: 1) Kefir, 2) Antimicrobial activity, 3) fermentation.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]