

REVISIÓN SISTEMÁTICA: EFECTO ANTIMICROBIANO Y OTROS USOS BENÉFICOS DE GRÁNULOS DE KÉFIR DE AGUA Y DE LECHE EN EL CAMPO DE LA INDUSTRIA ALIMENTARIA, SECTOR INDUSTRIAL Y ÁREA DE LA SALUD

Rubén Santiago Arias-Agudelo ¹, Néstor Andrés Valenzuela-Paguay ², Sindy Janery Fernández-Ortiz³, Sebastián Torres-Gutiérrez ⁴, Francia Elena Valencia-García⁵

¹ B. Sc (c): Escuela de microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia, ruben.arias@udea.edu.co

² B. Sc (c): Escuela de microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia, nestor.valenzuela@udea.edu.co

³ B. Sc (c): Escuela de microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia, sindy.fernandez@udea.edu.co

⁴ B. Sc (c): Escuela de microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia, sebastian.torresg@udea.edu.co

⁵ M. Sc and Ph. D, Docente, Escuela de microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia, francia.valencia@udea.edu.co

RESUMEN

El kéfir es un producto potencialmente probiótico que se obtiene durante procesos de fermentación natural, conformado por un consorcio de microorganismos entre ellos, levaduras, bacterias ácido-acéticas (BAA) y en su mayoría por bacterias ácido-lácticas (BAL). Estos microorganismos son simbióticos y generan metabolitos tales como: ácidos orgánicos, bacteriocinas, dióxido de carbono (CO₂), etanol, entre otros; que pueden manifestar propiedades antimicrobianas. Esta revisión sistemática tuvo como objetivo discutir la literatura reciente relacionada con el kéfir, el sobrenadante de Kéfir, cepas aisladas del consorcio del kéfir y los productos fermentados con gránulos de Kéfir, que demostraran sus efectos antimicrobianos, así como otras posibles ventajas que pudiera tener el uso del consorcio en el área de la salud y en la producción y conservación de alimentos. Para esta revisión sistemática, se buscaron las siguientes palabras claves: antimicrobiano, Kéfir, antagonismo, inhibición microbiana, control biológico; se aplicó la lógica booleana en seis bases de datos relacionadas con medicina, biología, biotecnología y microbiología. Los efectos benéficos para la salud se encontraron en artículos de la base de datos Pubmed, que es una base de datos especializada en ciencias de la salud, además para las aplicaciones en el área de alimentos se utilizó ScienceDirect y Scielo que son bases de datos de búsqueda científica, médica y de alimentos. Por último, se definieron como criterios de inclusión artículos de investigación publicados entre los años (2010-2022), en inglés, español y portugués. De 6325 artículos se seleccionaron 36. Estas publicaciones muestran que esta temática se encuentra en crecimiento y que el país con mayor número de publicaciones fue Brasil. estos artículos fueron agrupados en temáticas como: Capacidad antagónica (CA) de microorganismos aislados del Kéfir, CA de sobrenadantes de Kéfir, efectos benéficos sobre la salud y aplicaciones en alimentos. Siendo las tres primeras las que más desarrollo han tenido. Los resultados de estas investigaciones apuntan a promover el consumo de este producto y al desarrollo de nuevos productos farmacéuticos y alimentarios.

Palabras claves: Antimicrobiano; kéfir; antagonismo; inhibición microbiana; control biológico.

INTRODUCCIÓN

los gránulos de kéfir son pequeños bulbos insolubles en agua y de tamaño y forma irregular, variando de 0,3-3,5 cm de diámetro, conformado por un consorcio de microorganismos entre ellos levaduras, bacterias ácido-acéticas (BAA) y en su mayoría por bacterias ácido-lácticas (BAL). estos microorganismos que pueden ser simbióticos y generan diferentes metabolitos que pueden exhibir propiedades antimicrobianas [1,2]. El kéfir es un producto probiótico que se obtiene durante procesos de fermentación natural, se ha consumido ampliamente en Rusia y países de Asia central como Kazajstán, Kirguistán durante siglos, actualmente es cada vez más popular en países europeos, Japón, Estados Unidos y América Latina debido a sus efectos nutricionales, aromas y sabores [3].

Existen dos tipos de gránulos de kéfir, de leche y de agua, aunque el más conocido y extendido por el mundo es el de leche. Con respecto al kéfir de leche, la lactosa es el principal sustrato que se transforma en ácido láctico, función que cumplen las bacterias ácido lácticas (BAL) y también producen pequeñas cantidades de dióxido de carbono y alcohol (1% al 3%) mediante una fermentación mixta lacto-alcohólica que se da en condiciones anaerobias [4]. En cuanto al kéfir de agua la sacarosa es el sustrato principal, donde este es metabolizado mediante condiciones anaerobias y sus productos finales son el etanol, dióxido de carbono, ácido láctico, ácido acético, manitol y una variedad de compuestos aromáticos como la acetoina, el diacetilo, el acetaldehído entre otros [5].

Específicamente la actividad antimicrobiana del kéfir, se cree que se les atribuye a los ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, dióxido de carbono, bacteriocinas y etanol; compuestos biológicamente activos que podrían inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos [4] y se ha establecido que los sobrenadantes de lactobacilos homofermentativos ejercen una acción bactericida sobre *Salmonella sp.* asociado al bajo pH de estos sobrenadantes [6].

El kéfir se ha consumido principalmente por su perfil de sabor y su potencial para mejorar la salud humana debido a su alto contenido de vitamina B12, calcio, magnesio, vitamina K2, biotina, folato, enzimas y probióticos., también presenta una alternativa prometedora para las personas interesadas en incorporar bebidas fermentadas a su dieta, pero que no desean ingerir productos de origen animal o que son intolerantes y/o alérgicas a los productos lácteos, ya que la intolerancia a la lactosa es muy frecuente, de hecho, podríamos decir que es la intolerancia alimentaria más común pues afecta al 70% de la población mundial, y se debe a la mala absorción del disacárido lactosa, por ende algunas personas con intolerancia o mala absorción de la lactosa pueden tomar leche sin acusar las molestias gastrointestinales que les produce un vaso de leche normal. En cualquier caso, todo dependerá en gran medida del grado de sensibilidad de cada persona. [7]

La presente revisión tuvo como objetivo discutir la literatura reciente relacionada con el kéfir y sus efectos antimicrobianos, así como otras posibles ventajas que pudiera tener el uso del producto en el área de la salud, alimentaria y en cualquier otra área de interés.

METODOLOGÍA

Para esta revisión sistemática de literatura se realizó una búsqueda entre los años 2010 y 2022 en seis bases de datos que estuvieran relacionadas directamente con las ciencias naturales, biología y biotecnología: Pubmed (Pub), Scielo (Sci), Scopus (Sco), Springer (Spr), Ebsco Host (Ebc), ScienceDirect (SD). La ecuación de búsqueda fue; Kéfir, inhibition; biological control, Kéfir, empleandola lógica booleana, estas palabras fueron combinadas mediante el operador lógico "AND", "OR"

Se definieron como criterios de inclusión artículos originales publicados en los últimos 12 años (2010-2022), en inglés, español y portugués, también, artículos de investigación que su temática principal sea el Kéfir y que incluyeran beneficios saludables, inhibitorios, antimicrobianos. Además, se aplicaron los criterios de exclusión: artículos por fuera del rango definido de años de publicación, artículos de revisión, estudios de bacterias y levaduras no aisladas del consorcio del gránulo de Kéfir. Además, los artículos repetidos fueron eliminados de los resultados.

Los artículos seleccionados fueron organizados en Excel y se realizaron gráficos de barras y diagramas de tortas para establecer las tendencias según la cantidad de publicaciones por año y, además, conocer cuáles fueron los países que más han estudiado la temática, así como las revistas que más publican sobre esto.

Además de esto, los artículos se revisaron y para discutir su contenido se organizaron en cuatro temáticas específicas: Capacidad antagónica de microorganismos aislados del Kéfir (1) / Evaluación antagónica de los sobrenadantes obtenidos de diferentes tipos de kéfir (2) / Elaboración de alimentos funcionales con gránulos de Kéfir (3) y Otros efectos saludables evaluados de los gránulos de Kéfir (4). Los datos más representativos de los diferentes trabajos se organizaron en tablas y graficas para realizar su análisis.

	Palabras clave (Ecuación de búsqueda)	Artículos Encontrados	Criterios de inclusión			Criterios de Exclusión		Artículos seleccionados luego de aplicar criterios de inclusión y exclusión
			Año (12 Años)	Artículos de investigación (research articles)	Acceso abierto (open acces)	Artículos descartados por no pertenecer a las 4 temáticas escogidas	Artículos repetidos	
Pubmed	Antimicrobial, kefir	118	84	31	31	286	159	36
	Kefir, inhibition	132	76	29	29			
	biological control, kefir	16	12	5	5			
Scielo	Antimicrobial, kefir	20	5	5	5			
	Kefir, inhibition	3	3	3	3			
	biological control, kefir	2	2	1	2			
scopus	Antimicrobial, kefir	142	111	82	35			
	Kefir, inhibition	123	81	71	35			
	biological control, kefir	30	25	21	5			
Springer	Antimicrobial, kefir	537	350	197	49			
	Kefir, inhibition	681	386	229	41			
	biological control, kefir	732	415	242	40			
Ebsco Host	Antimicrobial, kefir	159	120	91	38			
	Kefir, inhibition	103	79	79	25			
	biological control, kefir	3	1	1	1			
SciencieDirect	Antimicrobial, kefir	1040	624	263	47			
	Kefir, inhibition	1154	694	312	54			
	biological control, kefir	1330	857	359	36			
	Total artículos	6325	3925	2021	481	286	159	
	Total artículos obtenidos luego después de aplicar los criterios		481			445		

Tabla 1. Artículos obtenidos después de aplicar los criterios de exclusión y de inclusión

Resultados y discusión

El diagrama de flujo de la revisión sistemática en los proveedores de contenidos, aplicando los criterios establecidos se presenta en la Figura 1.

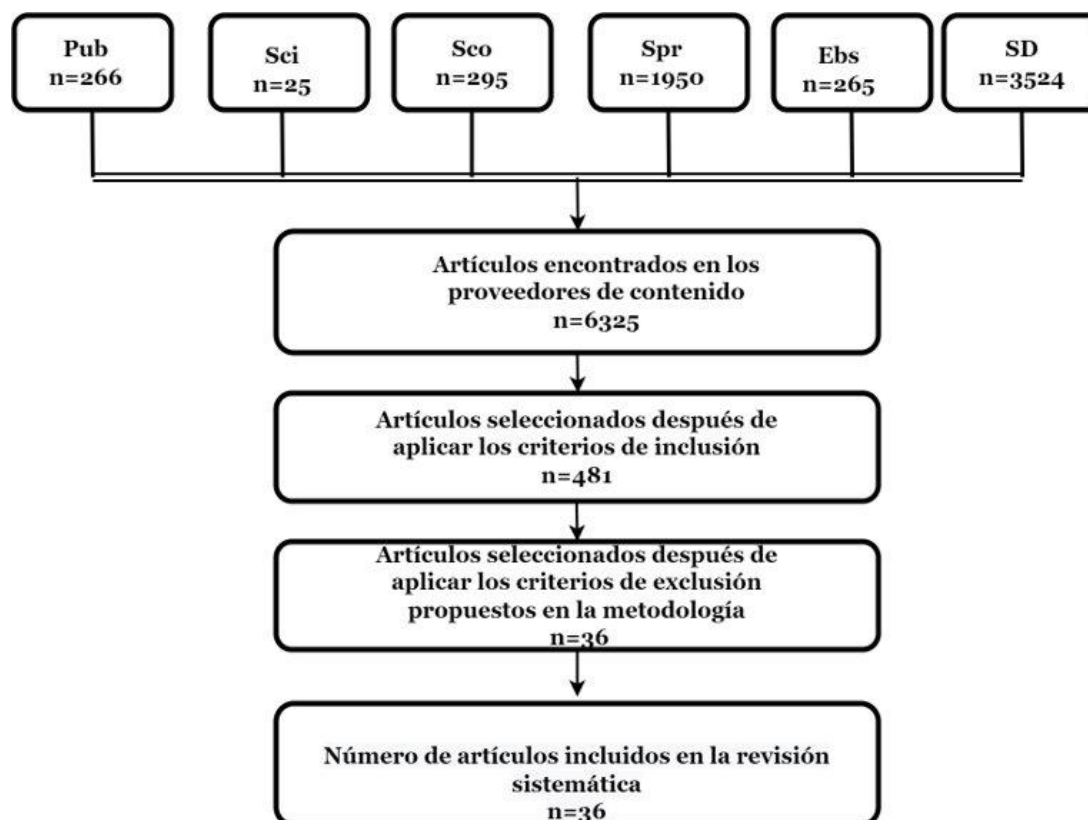


Figura 1. Esquema del protocolo de búsqueda de la revisión sistemática.

En total aparecieron 6325 artículos, la base de datos que arrojó la mayor información fue Science direct que mostró una cantidad correspondiente al 125 % más que Scielo, que fue la que menos artículos arrojó sobre la temática. Aun así, después de analizar esta información y de aplicar los criterios de inclusión y exclusión se incluyeron para el análisis 36 artículos.

De los artículos seleccionados, el número de artículos publicados por año y los países con mayor número de artículos publicados se presentan en las Figuras 2 y 3.

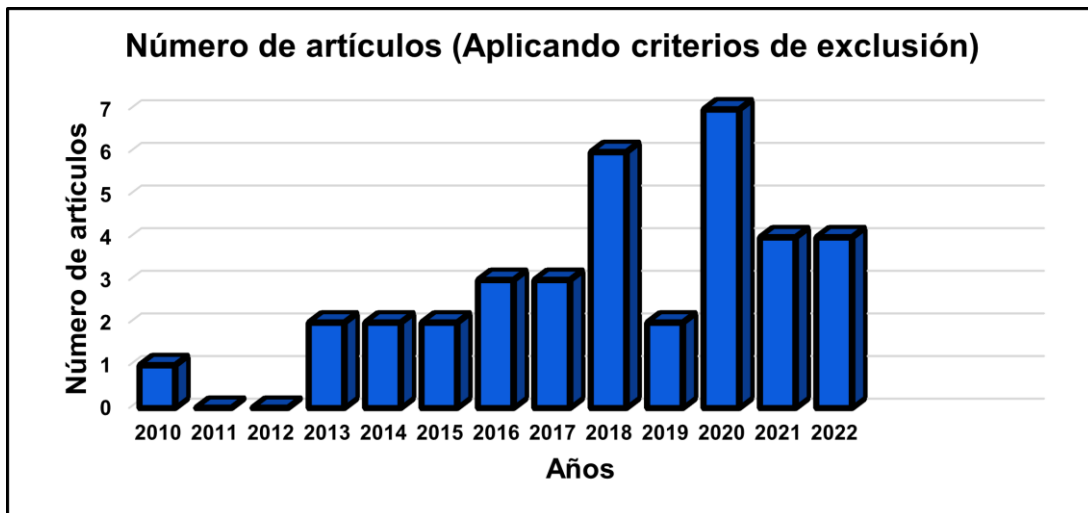


Figura 2. Número de artículos publicados por año.

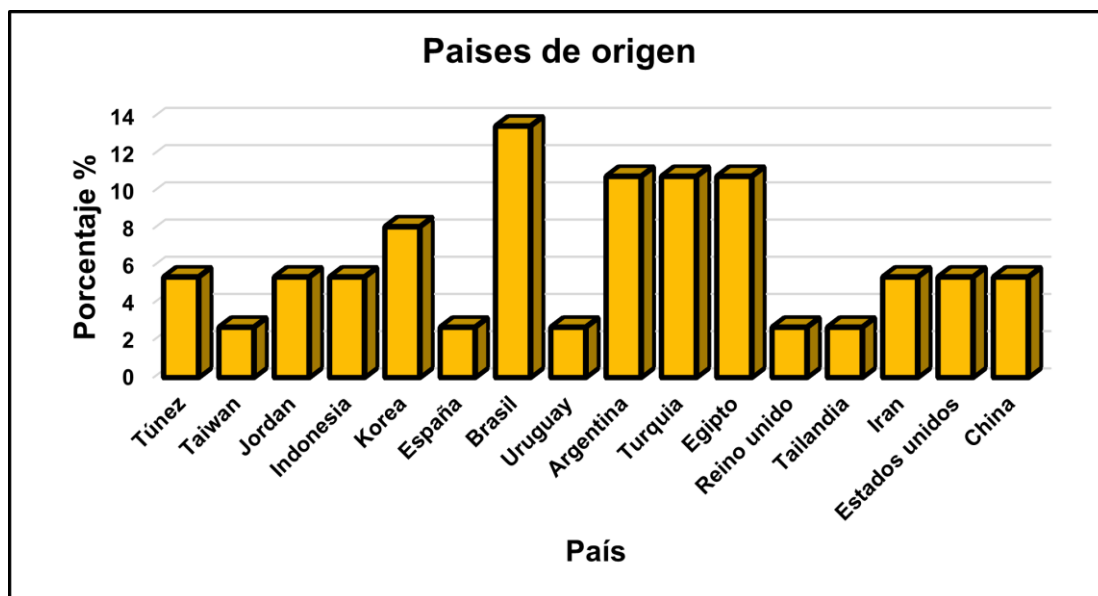


Figura 3. Porcentaje de participación de los países de origen donde se escribieron los artículos.

Se puede observar que la temática relacionada con la capacidad antagónica y otros efectos saludables del Kéfir ha ido en crecimiento, siendo los años 2018, 2020, 2021 y 2022 los que representan más de la mitad del total de las publicaciones realizadas durante la ventana de estudio (12 años) (Figura 2). Cabe resaltar que la disminución de las publicaciones en el año 2019 pudo haberse debido a la declaración de emergencia sanitaria por el Covid-19.

Por otro lado, los países con mayor número de artículos publicados en la temática específica fueron Brasil, Turquía, Argentina y Egipto (Figura 3). Además de esto, existe una gran variedad de revistas que ha publicado sobre la temática seleccionada(20), es así como la revista que más ha publicado es la revista Journal of Dairy science (14,7 %), probablemente debido a que la mayoría de los artículos desarrollan su trabajo con kéfir de leche ya que es la principal revista de investigación láctea general revisada por pares científicos en el mundo. Journal of Dairy science, publica investigaciones originales, artículos de revisión invitados y otros trabajos académicos relacionados con la producción y el procesamiento de

leche o productos lácteos destinados al consumo humano.

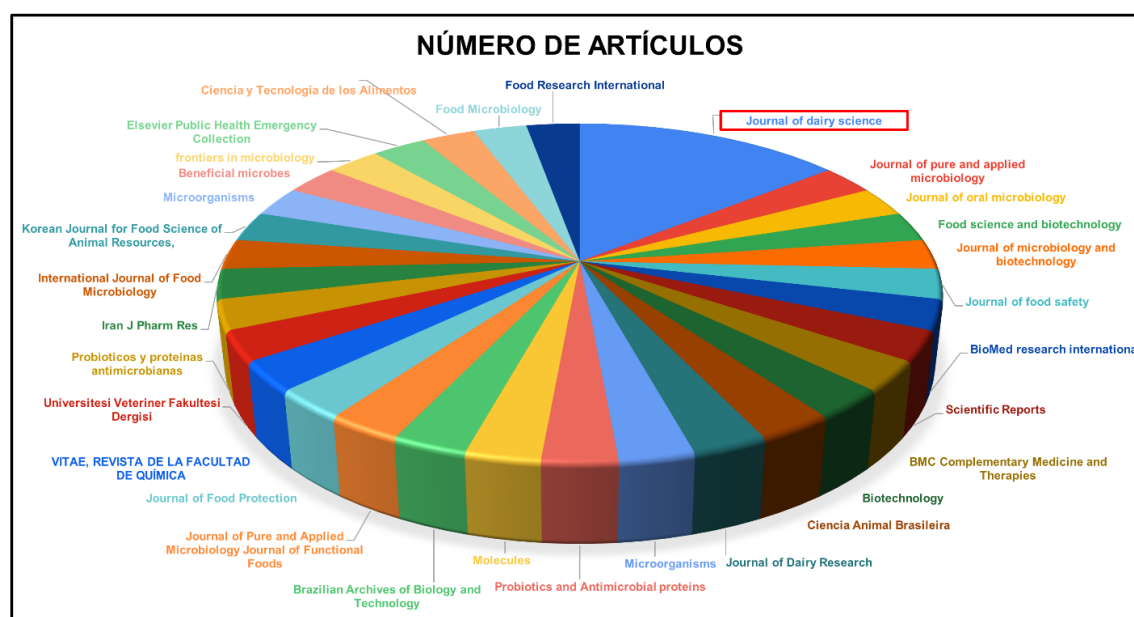


Figura 4. Revistas donde se publicaron los artículos incluidos

Los 36 artículos seleccionados fueron agrupados en 4 temáticas específicas: Capacidad antagonica de microorganismos aislados del Kéfir, capacidad antagonica de los sobrenadantes libres de células, efectos benéficos sobre la salud y efectos benéficos para la producción de alimentos.

Capacidad antagonica de microorganismos aislados del Kéfir

De los artículos clasificados en esta temática, se observa que el 91,66 % de los microorganismos aislados del Kéfir fueron bacterias ácido-lácticas (BAL) especialmente del género *Lactobacillus* y el 8,33 % corresponde a la especie *Acetobacter fabarum*, bacteria ácido-acética predominante en el granulo de kéfir. A su vez las especies de *Lactobacillus* más frecuentemente aislados fueron *L. kefir* (responsable de producir el exopolisacárido kefiran asociado al mantenimiento de la integridad estructural del grano de kéfir) (37.5%), *L. rhamnosus* (37.5%) y *L. plantarum* (25%); otras especies que fueron aisladas en menos frecuencia y estudiadas fueron *L. paracasei*, *L. helveticus*, *L. johnsonii*, y *L. mali*. Con relación a los patógenos empleados para evaluar la capacidad antagonica en los diferentes estudios, el más utilizado fue *Escherichia coli*, seguido de *Bacillus cereus* y en menor proporción *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Penicillium expansum*, *Penicillium brevicompactum*, entre otros. Cabe destacar que en términos generales los microorganismos patógenos que presentaron mayor inhibición en los diferentes trabajos fueron *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Penicillium expansum* y *Penicillium brevicompactum*. (ver tabla 2).

Tipo de kéfir	Microorganismos aislados del kéfir/sobrenadante	Patógenos evaluados	Efecto antagónico sobre estos patógenos	Técnica	Otras actividades antimicrobianas	Otras características
No específica	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> y <i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Escherichia coli</i> uropatógena (UPEC)	62-75%	difusión en pozos	actividad anti-biofilm	potencial probiótico
kéfir de leche	<i>Lactobacillus helveticus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	no reporta	no reporta	actividad anti-biofilm	Potencial probiótico
No específica	<i>Lactobacillus kefir</i> y <i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus mutans</i> <i>Streptococcus sobrinus</i>	100% 100%	densidad óptica (turbidez)	actividad anti-biofilm	potencial probiótico
No específica	<i>L. rhamnosus</i> y <i>L. kefir</i>	<i>Salmonella typhimurium</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Bacillus cereus</i>	> al 50% > al 50% > al 50%	no reporta	no reporta	potencial probiótico
kéfir de leche	<i>Acetobacter fabarum</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	100% 100% 100% 100% 100% 100% 100%	densidad óptica (turbidez)	no reporta	potencial aplicación en la industria alimenticia
No específica	<i>Lactobacillus kefir</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Salmonella enterica</i> <i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Bacillus cereus</i>	- ++ + ++ + - + ++	difusión en agar	no reporta	potencial probiótico
No específica	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Penicillium expansum</i> <i>Penicillium brevicompactum</i>	++ ++	concentración mínima inhibitoria	no reporta	potencial aplicación en la industria alimenticia

Tabla 2. Capacidad antagónica reportada para microorganismos aislados del Kéfir. Negativo. (-), $R < 2\text{mm}$; baja capacidad de inhibición (+), $2\text{ mm} > R < 5\text{ mm}$; y alta capacidad de inhibición (++) , $R > 6\text{ mm}$.

Según las investigaciones consultadas, uno de los efectos benéficos de las especies de *Lactobacillus* presentes en el kéfir es su actividad anti-biofilm o anti-biopelícula. Entre los mecanismos que se citan para inhibir la formación de biopelículas se menciona que, algunas cepas de *Lactobacillus sp.* suprimen los genes asociados a la formación de éstas en los microorganismos patógenos, genes que están relacionados con el metabolismo de los carbohidratos, codificación de proteínas de adhesión y biopelículas reguladoras. Se ha documentado que los lactobacilos producen ciertos compuestos bioactivos como biosurfactantes y exopolisacáridos, que pueden prevenir la formación de biopelículas de bacterias patógenas. La cantidad de biosurfactantes o exopolisacáridos producido por cada aislado, que depende de su potencial genético, pudiendo afectar la cantidad de su actividad anti-biopelícula. [7,8].

Como ejemplo de esto, Ghane et al. (2020), evaluó la actividad anti-biofilm de cepas de *Lactobacillus* contra *Escherichia coli* uropatógena (UPEC), donde demostró que cuatro de cada 12 cepas aisladas inhibieron la formación de biopelículas por UPEC en un rango del 62-75%. Otro estudio realizado por Raras et al. (2019) evaluó la capacidad de inhibir la formación de biopelículas de *Klebsiella pneumoniae*, que es un microorganismo resistente a múltiples fármacos, demostrando un efecto positivo mediante la reducción de la biopelícula ocho a nueve veces, medida por absorbancia; por otra parte, Jeong et al. [8] evaluó la actividad antimicrobiana y actividad anti-formación de biopelículas en un entorno oral contra *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus* (principales patógenos bacterianos causantes de la caries dental), demostrando la supervivencia de las bacterias lácticas en la cavidad bucal, su aerotolerancia y resistencia enzimática, e inhibieron el crecimiento y la formación de biopelículas de *S. mutans* y *S. sobrinus*. Las cepas que presentaron mayor potencial de los estudios fueron *L. rhamnosus*, *L. paracasei*; *L. Kefiri*, *L. plantarum* y *L. helveticus* respectivamente [7-9]

Continuando con las propiedades antimicrobianas del kéfir, estas se dan debido a especies como las (BAL), que producen sustancias o compuestos bioactivos que han sido ampliamente reportados, como el ácido láctico, bacteriocina, reuterina y reuteriicina. En otros estudios se evaluó la actividad antimicrobiana contra microorganismos patógenos, como *Escherichia coli* uropatógena (UPEC); *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* [10]; *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa*, un aislado clínico de *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* enterohemorrágica EDL, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus cereus*. [7,10,11].

Los resultados anteriores coinciden con Yusuf et al. (2020) que demostró que *L. rhamnosus* mostró la mayor actividad antimicrobiana [10]. También se ha demostrado que cepas de *L. Kefiri* presentaron mejor actividad antagónica sobre Gram negativos (*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Enteritidis*, *Shigella flexneri*) que sobre Gram positivos (*Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*) y ninguna de las cepas estudiadas inhibió a *Escherichia enterohemorrágica* (ECEH). Por lo que se infiere que la producción o secreción de moléculas capaces de inhibir el crecimiento de patógenos suele depender de la cepa, y

es una característica deseable, entre otras, para una bacteria potencialmente probiótica, tanto para uso animal como humano y también podría ser una ventaja tecnológica en la industria alimentaria ya que podrían usarse como cultivos iniciadores funcionales [11].

Más aún, *Lactobacillus Kefiri* son considerados seguros, ya que no presentó hemólisis α o β y fueron sensibles a tetraciclina, clindamicina, estreptomycin, ampicilina, eritromicina, kanamicina y gentamicina, estas cepas fueron suministradas a ratones con una dosis oral de 10^8 UFC durante 21 días, sin mostrar signos de dolor, letargo, deshidratación o diarrea y sin presentar cambios en estudios histológicos. De manera que se puede inferir que estos microorganismos aislados de los gránulos de kéfir tienen potencial como probióticos para uso humano o animal [11].

Leite, A. M. et al. (2015) demostraron el potencial probiótico de 34 aislados de bacterias ácido-lácticas (BAL) obtenidas de gránulos de Kéfir brasileño que fueron identificadas mediante análisis de restricción de ADN ribosómico amplificado y secuenciación de ADN r 16S. De las 34 bacterias ácido-lácticas aisladas y caracterizadas, 18 aislamientos pertenecían a la especie *Leuconostoc mesenteroides*, 11 a *Lactococcus lactis* (de los cuales 8 pertenecían a la subespecie *cremoris* y 3 a la subespecie *lactis*) y 5 a *Lactobacillus paracasei*. Todas las cepas mostraron alguna actividad antagonista contra 4 patógenos alimentarios modelo. Además, 3 *Lc. lactis* y 1 *Lb. paracasei* produjeron sustancias inhibitoras de tipo bacteriocina contra al menos 2 organismos indicadores. Más aún, 1 *Lc. lactis* y 2 *Lb. paracasei* presentaron buena actividad antioxidante total. Esto llevó a concluir que tras una caracterización completa y los correspondientes ensayos *in vivo*, estas cepas podrían finalmente incluirse como probióticos en alimentos funcionales [13].

Majak Gut, et al. (2022) se enfocaron en los metabolitos antibacterianos como: catelicidina, xantina deshidrogenasa, mucina-1, lactadherina, lactoperoxidasa, proteína amiloide A sérica y lactotransferrina producidos por *Kluyveromyces lactis* y *Saccharomyces unisporus* aislados de granos de Kéfir tradicionales, que han sido reportadas como levaduras probióticas, con el fin de evaluar la inhibición que estas podrían presentar frente a *Salmonella Arizonae* y *Salmonella Typhimurium*. Los resultados arrojaron que el medio de cultivo fermentado con las levaduras mostró inhibición del crecimiento de *Salmonella*, además se detectaron proteínas con propiedades antimicrobianas conocidas como: catelicidina, xantina deshidrogenasa, mucina-1, lactadherina, lactoperoxidasa, proteína amiloide A sérica y lactotransferrina; sugiriendo que estas proteínas son responsables del efecto de inhibitorio [14].

Cabe decir que otro de los géneros que conforman el gránulo de Kéfir, son las bacterias ácido-acéticas, que se encuentran presentes en menor cantidad que las BAL. En la investigación realizada por Kim et al. (2020). se evaluó su potencial aplicación en la industria alimentaria, analizando la actividad antimicrobiana de *Acetobacter fabarum* sobre siete patógenos de los alimentos (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli enterohemorrágica* y *Shigella flexneri*) donde el nuevo aislado inhibió el crecimiento de estas bacterias patógenas, por

lo que se concluyó que *A. fabarum* forma una barrera protectora contra la contaminación durante la fermentación del kéfir. La actividad antimicrobiana de este microorganismo podría ser atribuible al ácido acético; sin embargo, se ha demostrado que el ácido acético no es la única sustancia efectora, ya que las bacterias ácido acéticas pueden producir varios compuestos antimicrobianos que incluyen celulosas antimicrobianas, exopolisacáridos, ácidos ascórbicos, ácidos protocatecuicos y compuestos fenólicos. Además, la presencia de bacterias ácido acéticas (BAA) en el kéfir está respaldado por el hecho de que este tipo de bacterias son microorganismos ubicuos que se encuentran en muchos tipos de alimentos y prefieren nichos azucarados, ácidos y alcohólicos, incluidas frutas, flores y alimentos fermentados [15]

Evaluación antagonica de sobrenadantes obtenidos de diferentes tipos de kéfir

De la presente temática el 69,23 % de los artículos se publicaron entre los años 2017 y 2021, y el 30,76% restante fueron publicados entre los años 2010 y 2016. En estos artículos se observa que la actividad antimicrobiana del kéfir ha sido estudiada realizando ensayos en humanos, animales, ensilajes e *in vitro*. Los patógenos más empleados en los diferentes estudios han sido *E. coli* en el 69,23 %, *S. aureus* en el 53,84 % y los microorganismos menos reportados fueron *Enterococcus faecalis*, *Cronobacter sakazakii*, *Aspergillus ochraceus*, *Candida albicans*, con un 7,69 % para cada patógeno respectivamente (Tabla 3).

Con relación a los sobrenadantes, se ha evaluado el efecto del pH sobre la capacidad antagonica. Autores han reportado que la capacidad antagonica de los sobrenadantes del kéfir de leche depende del pH, ellos mostraron que el sobrenadante de gránulos de Kéfir a pH 7 fue efectivo contra *S. aureus* resistente a la metilina (MRSA) y *P. aeruginosa*; por el contrario, a un pH de 5 solo se evidenció actividad antagonica sobre *P. aeruginosa*; y al evaluar las principales familias presentes en el kéfir del que se obtuvieron los sobrenadantes, a pH 7 fueron *Lactobacillaceae* (56,4%), *Acetobacteraceae* (29,32%), *Pseudomonadaceae* (11,13%) y *Streptococcaceae* (1,55%) y en el kéfir a pH 5 fue *Lactobacillaceae* (94,43%), Marques et al. [16]. Así mismo, Dias et al. (2018) expuso que la acidez del sobrenadante de kéfir de leche es el que le confiere la actividad antagonica, para ello realizó dos montajes, uno con el sobrenadante sin alterar y el segundo neutralizando el sobrenadante y observaron que, el sobrenadante sin alterar presentó inhibición de las cepas *S. entérica* subsp. *Enterica* serotipos *Typhimurium* y *Enteritidis*, *E. coli*, *S. aureus* y *Lis. Monocytogenes*, mientras que el sobrenadante neutralizado disminuyó el halo de inhibición, probablemente debido a la neutralización de los ácidos [17].

Así mismo, se ha demostrado la capacidad de inhibición y la actividad antioxidante del kéfir fermentado en diferentes sustratos. La fermentación realizada con gránulos de kéfir a bebidas a base de arroz y leche, mostraron que la capacidad antagonica depende del tiempo de fermentación, donde ambos fermentos presentaron actividad antagonica sobre *B. subtilis* y *E. coli* a 24 y 48 horas, mientras que en *S. aureus* ambas bebidas fermentadas demostraron inhibición a 48 horas. Por otra parte, se evaluó la actividad antagonica de la leche de oveja fermentada con kéfir sobre las cepas *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*,

E. faecalis, *B. cereus*, *B. subtilis* y *S. aureus*; demostrando que el sobrenadante inhibe el crecimiento de las diferentes cepas patógenas evaluadas [19].

Continuando con los sustratos, Vélez y Peláez (2017) evaluaron la actividad antagónica del sobrenadante de solución acuosa de panela fermentada sobre la cepa *Aspergillus ochraceus*, utilizando un control positivo que contenía el microorganismo en la solución acuosa de panela sin fermentar con cultivo de kéfir y otro contenía el sobrenadante fermentado de solución acuosa de panela y el microorganismo. El investigador observó la inhibición de *A. ochraceus* realizando recuentos. En relación con esto, es conocido que un ácido es más fuerte cuanto menor es su pKa; en este sentido, el ácido láctico (pKa 3,86) es más acidificante que el ácido acético (pKa 4,75). Además, el ácido láctico es el principal producto metabólico producido por las BAL, que disminuye el pH y que es capaz de inhibir muchos microorganismos. De forma similar, el ácido acético interactúa con la membrana celular para neutralizar el gradiente electroquímico de protones, e incluso puede llegar a inhibir la captación de aminoácidos, disminuyendo la viabilidad fúngica. Se ha descrito que el efecto antifúngico del ácido acético a menudo es dependiente de la disminución del pH por parte del ácido láctico [20].

Con referencia a los sustratos, autores demostraron que la adición de diferentes tipos de azúcar (sacarosa, azúcar demerara, fructosa, azúcar de coco y miel) afecta la actividad antagónica del sobrenadante del kéfir de leche de oveja contra los patógenos presentando diferentes rangos de inhibición acorde con el sustrato: *L. monocytogenes* 3 - 4,3 mm), *S. enterica* subsp. *diarizonae* 0 - 3,33 mm, *E. coli* 2,33 - 3 mm y *S. aureus* 2,33 - 2,67 mm concluyendo que el sobrenadante de leche de oveja fermentada con kéfir presenta una actividad antagónica media (2 - 5 mm); en este estudio se quiso evaluar la sustitución de la sacarosa por azúcares no convencionales (azúcar demerara, fructosa, azúcar de coco y miel) en el kéfir de leche y los efectos sobre la viabilidad microbiana; el uso de azúcares no convencionales mejoró la actividad antagónica frente a patógenos como *salmonella* spp, la formulación de kéfir con adición de azúcar demerara presentó el mejor desempeño, con disminución del índice aterogénico, índice trombogénico e índice de ácidos grasos saturados hipercolesterolémicos. ninguna de las formulaciones inhibió *B. cereus*. estos resultados son importantes para la industria láctea ya que la sustitución del azúcar refinado por componentes con beneficios para la salud es de gran interés para los consumidores Larosa et al. [21]

Más aún, se caracterizó la fracción no microbiana del kéfir de leche y se estudió su antagonismo contra cepas de *E. coli*, *Salmonella* spp. y *B. cereus*, evidenciando la producción de ácido láctico y acético durante la fermentación de la leche, esta fracción no microbiana de la fermentación fue añadida a un caldo de cultivo en concentración de 75% v/v encontrando actividad inhibidora sobre los patógenos evaluados, Irporda et al. [22]. AbdEl-Mogheith, S et al. (2017) reportaron la actividad antibacteriana del sobrenadante fermentado del kéfir de leche sobre *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *S. enteritidis*, pero no para *P. aeruginosa* y *C. albicans*, AbdEl-Mogheith et al. [23].

También se han evaluado las propiedades antimicrobianas de los péptidos presentes en el sobrenadante de leche de oveja fermentada con kéfir, en relación con la capacidad

antimicrobiana observaron que el extracto lipídico obtenido del sobrenadante presentó una inhibición del 100% sobre *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *B. cereus*, *B. subtilis* y *S. aureus*, de Lima et al. [24]. La leche fermentada aumenta el grado de proteólisis, y esto genera una concentración acentuada de péptidos durante el almacenamiento se ha demostrado un alto nivel de actividad antimicrobiana al final del período de almacenamiento, revelando la relación entre el desarrollo de la actividad antimicrobiana y un alto grado de proteólisis. Los autores también examinaron la actividad antimicrobiana usando el radical ABTS de extractos peptídicos acuosos de leche contra *Lactobacillus rhamnosus*, y observó que los extractos peptídicos con mayor actividad antimicrobiana fueron los examinados al final del tiempo de almacenamiento (21 días). Los autores sugirieron que no es solo el tamaño de los péptidos sino también su naturaleza y composición, lo que juega un papel importante en la extinción del radical ABTS y en la promoción de la eficacia de la capacidad antimicrobiana.

Asimismo, la influencia de la composición química del kéfir sobre la actividad antagónica ha sido estudiada por Al-Mohammadi, A. R., et al. (2021) que realizó estudios con una bebida de kéfir (BK) y la bebida de kéfir neutralizada (BKN). En la bebida de kéfir (BK) se detectaron grupos químicos como alcaloides, fenoles, éteres y ésteres de ácidos grasos, esteroides, aldehídos, heterocíclicos, polialquenos, a los cuales se les atribuyó la capacidad de inhibir los microorganismos patógenos como *E. coli*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. Typhimurium*, *A. flavus* y *A. niger*, presentando la BK una mayor actividad antagónica en comparación con BKN, atribuible no solo al pH ácido, sino también a los microorganismos presentes en la fracción microbiana del sobrenadante [25].

En las investigaciones realizadas, también se ha comparado el kéfir obtenido de regiones o de productos elaborados en diferentes países. Investigadores evaluaron de tres regiones del sudeste de Brasil: Viçosa/MG, Caratinga/MG y São Paulo/SP, mostrando que los tres sobrenadantes del kéfir obtenidos en las diferentes regiones poseen capacidad para inhibir el crecimiento de cepas patógenas como *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhi* y *L. Monocytogenes*. Aunque, los tres consorcios presentaron diferencias en su microbiota debido a la región de procedencia, esto no afectó su actividad antagónica [26]. Igualmente, se comparó los espectros antimicrobianos de cuatro tipos de kéfir (A, L, M y S) fermentados durante 24, 36, 48 y 72 h contra ocho patógenos transmitidos por los alimentos: *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella Enteritidis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Cronobacter sakazakii*, donde los espectros antagónicos, y las potencias de éstos variaron según el tipo de kéfir y el tiempo de fermentación. El espectro antimicrobiano más amplio y fuerte se obtuvo después de al menos 36-48 h de fermentación para todos los Kéfir. Con relación al tipo de Kéfir empleado, los evaluadores infieren que el sobrenadante de kéfir contiene varios metabolitos y compuestos inhibidores, como ácidos orgánicos, peróxidos de hidrógeno, alcohol etílico, diacetilo, péptidos y posiblemente bacteriocinas, que varían dependiendo del cultivo y que interactúan entre sí para potenciar o antagonizar sus efectos antimicrobianos, Kim et al. [27].

En la misma línea, se tomaron productos fermentados con gránulos de Kéfir adquiridos en diferentes países: Fusion Tea de Seattle, USA (A), Gran Bretaña (B), Irlanda (I), Lituania (L), la región de Caucasus (C) y Corea del Sur (K) fueron añadidos en diversos medios de cultivo, para estudiar el antagonismo contra diferentes bacterias patógenas presentes en alimentos como: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica serovar Enteritidis*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*. Los resultados evidenciaron que todos los productos fermentados presentaron inhibición sobre los patógenos. Los consorcios A, B e I inhibieron todas las cepas patógenas examinadas, excepto *Escherichia coli*. Los consorcios K, L y C inhibieron las cepas patógenas, excepto *S. aureus* y *E. coli*, Sindi et al. [28]. Estos autores sustentan, al igual que [27] que la capacidad inhibitoria de los granos de kéfir es debido a las sustancias con naturaleza proteica (bacteriocinas), mencionando que estas sustancias son responsables de la mayor parte de la actividad antibacteriana observada contra los patógenos presentes en los alimentos. Además, mencionan que las bacteriocinas son en su mayoría producidas por BAL que hacen parte en altas proporciones de los granos de kéfir [27,28].

Por su parte, Gonda et al. (2019) probó la actividad antagónica del sobrenadante y los gránulos de Kéfir de agua (ka) para el control biológico sobre *A. niger* en sorgo ensilado; planteando dos tratamientos, el primero con kéfir de agua filtrado y el segundo con kéfir de agua no filtrado, ensilando e incubando por 7 días a 25°C y observaron mediante recuento que, el tratamiento no filtrado presentó mayor inhibición del microorganismo en comparación con el tratamiento filtrado. Por lo que el autor concluye que los microorganismos en el kéfir de agua son importantes para el control biológico de diferentes patógenos que afectan a los cultivos de sorgo [29].

Evaluación potencial del kéfir sobre la salud con modelos *in vivo*

Los efectos saludables también han sido evaluados, por un lado, la capacidad de una bebida fermentada con gránulos de Kéfir de leche para inhibir las células carcinoma Ascítico Ehrlich (CAE) en ratones, donde demostraron que las bebidas fermentadas a base de kéfir de leche tienen potencial quimiopreventivo estimulando el sistema inmunológico para reducir la incidencia de tumores y el crecimiento de los mismos, al inducir la apoptosis a través de una vía dependiente de mitocondrias. Para ello, inocularon ratones con CAE vía intramuscular, una parte de los ratones fueron tratados con el probiótico por 30 días y los otros no. En los ratones tratados con el probiótico, se observó la inhibición de la incidencia en el crecimiento tumoral, mientras que en los ratones no tratados se dio crecimiento y proliferación de células CAE, Badr El-Din et al. [30]. Los resultados obtenidos mostraron una similitud con lo observado por Bozkurt et al. [31], el cual demostró la apoptosis de células CAE con la diferencia de que el sobrenadante se obtuvo de la fracción del kéfir con juglona y resveratrol en una proporción 1:2 y un almacenamiento previo de 48 horas.

En el marco de algunas de estas investigaciones, se ha evaluado el potencial probiótico de las bacterias ácido-lácticas (BAL) aisladas del kéfir, entre ellas, la tolerancia a pH ácido, sales biliares, resistencia a antibióticos, y la capacidad de autoagregación y coagregación

[7,10,12]. Ghane et al. [7] mostró que las especies *L. rhamnosus* y *L. paracasei* tuvieron la mejor viabilidad en condiciones ácidas que varió entre 6 - 89,8 %, además todos los aislados toleraron la bilis al 0,3% y ocho de los doce aislados mostraron un tiempo de adaptación inferior a 1 h. Por otra parte, *Lactobacillus mali* mostró tolerancia a pH 2.5 y resistió las sales biliares, la pepsina y la pancreatina, comparable a la de *Lactobacillus rhamnosus* (cepa de referencia) [12]; igualmente en otro estudio se destacaron *Lactobacillus kefir* y *Lactobacillus rhamnosus* que mostraron una capacidad de supervivencia considerable, con una reducción celular de ~3 log UFC/ml después de la exposición a pH 2,5 y sales biliares 0,5 % (p/v) durante 1 y 3 h respectivamente, además fueron sensibles a un amplio espectro de antibióticos [10].

Continuando con los efectos anticancerígenos, otros autores demostraron que las condiciones de la fermentación de los gránulos de kéfir pueden afectar la capacidad anticancerígena de éste. Para ello, se tomaron extractos de Kéfir preparados en condiciones estándar como control, inoculando 5 % p/v de kéfir en leche por 24 h a 25 °C y otros tratamientos donde variaron los tiempos de fermentación en 24, 48 y 72 horas respectivamente a unas temperaturas de fermentación de 4, 25 y 40 °C. Estos tratamientos fueron puestos en contacto frente a siete líneas celulares de cáncer. En cuanto a los resultados obtenidos, ellos encontraron que los extractos de Kéfir preparados en condiciones estándar fueron de 5 a 8 veces más efectivos contra las células de leucemia mielógena crónica (K562) y cáncer colorrectal (HCT116), en este caso los valores de citotoxicidad del kéfir fueron de 11,36 y 17,39 mg/mL respectivamente. Por otra parte, demostraron que el tiempo de la fermentación fue el factor que provocó una diferencia significativa en los efectos positivos del kéfir sobre las células cancerígenas, ya que, los tiempos de fermentación más largos (72 horas) se pierden las propiedades anticancerígenas del kéfir contra las líneas de cáncer [32].

En torno a este tema, se realizó un estudio con ratas Wistar lactantes, las cuales se dividieron de la siguiente manera: camada Normal (CN), camada normal de Kéfir (CNK), camada pequeña (CP) y camada pequeña de Kéfir (CPK). Las camadas CN y CP les suministraron 1 mL de agua/día, mientras que las camadas CNK y CPK recibieron leche de Kéfir diariamente durante la lactancia. Después, las crías de ratones fueron destetadas y continuaron recibiendo este mismo tratamiento durante 60 días. Luego, a los 67 días se les indujo carcinogénesis colorrectal mediante inyección intraperitoneal de 1,2-dimetilhidrazina (DMH). Los resultados de esta investigación mostraron que al pasar 240 días los ratones de la camada pequeña (CP) tenían un tejido adiposo visceral mucho mayor en comparación con las otras camadas (CN, CNK Y CPK). Además, encontraron que la ingesta de kéfir suprimió la cantidad de tumores en los grupos CNK y CPK, de igual manera, hay que tener en cuenta que los efectos antitumorales del kéfir son numerosos, ya que incluyen la reducción del depósito de tejido adiposo y la inflamación de la mucosa del colon, además, mejora la formación de la microbiota en el intestino debido a la reproducción del género *Romboutsia*, que es una bacteria útil y beneficiosa para reducir la inflamación de las mucosas [33].

Por otra parte, Iraporda, C. et al. (2017) realizó ensayos *in vitro* sobre células intestinales a las cuales les adicionó *Salmonella* y la fracción no microbiana del kéfir y se observó que con la fracción antimicrobiana la *Salmonella* no invadió ni se asoció a la célula, o sea que la microbiota intestinal no presentaba ningún cambio, evidenciando el efecto protector del lactato [22].

Dentro de la temática antimicrobiana, tres cepas bacterianas y dos levaduras se aislaron de granos de kéfir para evaluar el efecto protector de las células epiteliales intestinales y la respuesta proinflamatoria provocada por este patógeno contra la invasión de *Shigella flexneri* y *S. sonnei*, Estos autores mostraron que, la mezcla de cinco cepas inhibe el crecimiento de *S. sonnei in vitro* y evita la invasión de las células Hep-2 de mamíferos por parte de la *S. sonnei* y *S. flexneri*. También pudieron comprobar que el poder inhibitorio de la mezcla microbiana es significativamente mayor que el ejercido por cada microorganismo por separado, lo que sugiere el efecto sinérgico que se evidencia en la mezcla de levaduras y bacterias [34]. Todo esto sustentado en las bacteriocinas producidas por gran variedad de bacterias que conforman el grano de kéfir, que son las responsables de generar la capacidad inhibitoria y antagonista frente a diferentes patógenos microbianos, similar a lo reportado por [27,28,35].

Mas aún, se evaluó *in vitro* el efecto de *Lactobacillus Kefiranofaciens* M1, aislado a partir de los gránulos de Kéfir, sobre la infección causada por *Escherichia coli enterohemorrágica* (EHEC) en la viabilidad de células epiteliales intestinales Caco-2 y, en ratones evaluando la cantidad de *E. coli enterohemorrágica* (EHEC) en los órganos y la sangre, e hicieron una evaluación histológica, y la producción de inmunoglobulina IgG, IgM e IgA, y la cantidad de la toxina Shiga (Stx) producida. Con respecto a los análisis, del estudio *in vitro* de *Lactobacillus Kefiranofaciens* M1, se evidenció que este microorganismo tiene un efecto protector de las células epiteliales intestinales Caco-2, ya que hubo una reducción de la pérdida de integridad epitelial. Así mismo, ellos demostraron, que la administración de *Lactobacillus kefiranofaciens* M1, pudo prevenir los diferentes síntomas asociados a la infección por ECEH, como el daño intestinal, el daño renal, la translocación bacteriana y la penetración de la toxina Shiga. Chen et al. [36].

Otra forma benéfica del uso del kéfir fue la adición de gránulos de Kéfir en la alimentación de terneros, donde se evaluó el efecto al azar de tres tratamientos: Sin Kéfir (control; KF0), Kéfir mezclado con leche (KF1) a altas concentraciones de lactosa y kéfir mezclado con leche con bajas concentraciones de lactosa (KF2), sobre la concentración de metabolitos sanguíneos, la longitud corporal y el peso de 30 terneros Holstein de 3 días de edad. Como resultado observaron que la adición de Kéfir a la leche suministrada a los terneros no tuvo ningún efecto sobre la concentración de metabolitos sanguíneos, pero sí lo tuvo sobre la longitud corporal en los 50 (destete) y 70 días de estar consumiendo los tratamientos, donde fue mayor la longitud corporal de los terneros alimentados con kéfir, comparada con la de los terneros alimentados con leche sin Kéfir. Además, la ingesta de kéfir mejoró las puntuaciones fecales y redujo los días con diarrea durante las primeras 2

semanas de vida. Concluyendo, que alimentar con kéfir a los terneros recién nacidos puede ser un enfoque viable para mejorar la salud de éstos, aunque se recomienda investigar sus efectos en diferentes condiciones de cría de terneros [37].

En otros estudios se ha demostrado que los probióticos elaborados a partir de gránulos de Kéfir de leche, son eficientes para reducir la unión epitelial y la pérdida ósea alveolar (ABL) en ratas con periodontitis experimental (EP), una enfermedad inflamatoria de pérdida ósea que afecta los tejidos de soporte de los dientes. En los resultados de la investigación, obtuvieron que con un mayor tiempo de fermentación (a partir de 4 días), la administración de kéfir de leche fue capaz de reducir la inmun expresión de TNF- α , IL-1 β e IL-6 en ratas con periodontitis, reduciendo así la pérdida ósea alveolar en estos animales, dando a entender que el kéfir de leche tiene el potencial de aumentar las citoquinas antiinflamatorias y disminuir las citoquinas proinflamatorias, actuando como un agente eficaz contra la inflamación en la enfermedad periodontal [31].

Efectos benéficos para la producción de alimentos

Con relación al desarrollo de alimentos, se ha aplicado a mezcla de maíz sobrenadante de kéfir de leche para mejorar la vida útil de las arepas, previniendo el crecimiento de mohos, el kéfir fue incubado a 30 °C hasta un pH de 3.3 y se comparó con la adición de leche sin fermentar adicionada de ácido acético y ácido láctico, las arepas fueron expuestas a contaminación fúngica natural y artificial. Los autores encontraron que la inhibición fúngica del sobrenadante del kéfir de leche se logró con una concentración de 100 g/L, el cual logró una actividad antifúngica más alta que la leche acidificada artificialmente con ácidos orgánicos (Acético y láctico) a la misma concentración de Kéfir. Por su parte, las arepas horneadas con el sobrenadante del kéfir de leche exhibieron una resistencia significativa a la contaminación por hongos naturales y artificiales y conservaron las características organolépticas del producto de maíz tradicional, pero con ciertos sabores impartidos por los compuestos generados en la fermentación del kéfir [35].

También se han realizado investigaciones en alimentos, evaluando la actividad antimicrobiana sobre la cepa de *Cronobacter sakazakii*, utilizando el sobrenadante fermentado de leche de soja con kéfir en una fórmula infantil en polvo, aplicando el sobrenadante sobre la fórmula infantil contaminada previamente con el microorganismo y evidenció la inhibición de éste [38].

Otra aplicación en alimentos fue evaluar la actividad antifúngica de suero liofilizado y suero fermentado de *L. plantarum* mediante ensayos *in-vitro* (microdilución en microplacas) e *in-situ* (pan de pita) para mejorar de la vida útil, contra cepas *Penicillium expansum* y *Penicillium brevicompactum* mostrando que las concentraciones mínimas inhibitoria y mínima fungicida variaron de 3,9 a 39,0 g/L en *P. expansum* y de 62,5 a 250 g/L en *P. brevicompactum* con suero liofilizado; mientras que la adición de suero fermentado en el pan de pita aumentó la vida útil hasta 8 días más después de la inoculación con *Penicillium* en comparación con el control positivo, mientras que en condiciones de

contaminación natural se observó una extensión de la vida útil hasta 19 días. En términos de actividad antimicrobiana, la mayor reducción (100 %) en el crecimiento de hongos se logró cuando se reemplazó toda el agua de la masa con suero fermentado con *Lactobacillus plantarum*. Por lo que se sugiere la posibilidad de utilizar suero fermentado en la conservación de alimentos [39].

Otras aplicaciones de los gránulos de Kéfir relacionadas con la aplicación en alimentos tienen que ver con las micotoxinas que son un grave problema de salud pública, entorno a esto autores evaluaron la capacidad de biotransformación o adsorción de micotoxinas de gránulos de Kéfir y de cepas aisladas de éstos *in vitro*: *Lactobacillus Kefiri* KFLM3, *Kazachstania servazzii* KFGY7, *Acetobacter syzygii* KFGM1 empleando diferentes medios de cultivo y leche para sus ensayos. Estas cepas, mostraron efectos positivos para la adsorción de micotoxinas como la aflatoxina B1 (AFB1), ocratoxina A (OTA) y zearalenona (ZEA), adsorbiendo entre el 82 y el 100 % de éstas en la leche. Mostrando que la cepa que mejor efecto tuvo fue *L. Kefiri*, sin embargo, este proceso de adsorción fue reversible al exponer los tratamientos a diferentes concentraciones de pH, logrando retenciones finales del 52% para *K. servazzii* KFGY7, 34% *L. Kefiri* KFLM3, 23% *A. syzygii* KFGM1 y al emplear el consorcio de los microorganismos se tuvo una adsorbió el 42% de las micotoxinas. Estos resultados muestran la utilidad de estas cepas en el desarrollo de nuevos productos [40].

Con referencia a las micotoxinas, se ha investigado la capacidad de los granos de kéfir tibetano (GKT) y de aislados de su comunidad microbiana en la desintoxicación frente a micotoxinas comunes en productos lácteos. En los resultados de la investigación los (GKT) eliminaron más del 90% de la Ocratoxina A (OTA) después de 24 horas. Mientras tanto, el aislado que mostró la mayor capacidad de eliminación fue *Kazachstania unisporus* AC-2 con un porcentaje del 46.1%, a parte, este aislado presentó buena tolerancia a los ambientes ácidos y de sales biliares. De hecho, al analizar el mecanismo de desintoxicación de (OTA) descubrieron que los (GKT) mostraron que tienen tanto la capacidad de adsorción como de degradación para la desintoxicación, teniendo mejor desempeño la adsorción. Finalmente, estos resultados demuestran y sugieren que los productos fermentados con (GKT) pueden tener la capacidad de eliminar de una forma natural la contaminación de la leche causada por micotoxinas, además, podrían ser usados como probióticos en diferentes productos de fermentación [41].

Para finalizar, Se pretende con este trabajo incentivar a que las investigaciones futuras en esta área, deberían estar relacionadas con las propiedades antimicrobianas de los consorcios de microorganismos del kéfir y los mecanismos de inhibición. Además, a realizar ensayos clínicos sistemáticos para comprender mejor las propiedades antimicrobianas de los microorganismos del kéfir y los compuestos asociados para establecer cantidades adecuadas para el consumo humano.

Conclusiones

Actualmente existe una amplia cantidad de artículos publicados que evidencian diferentes efectos benéficos del uso del kéfir, donde se muestra que la actividad antagónica del kéfir está asociada a las cepas que conforman el consorcio microbiano del grano, así como a los compuestos producidos en su metabolismo, de allí que existen diferentes factores de crecimiento que deben controlarse para asegurar los efectos benéficos, entre ellos el tipo de sustrato y el tiempo de fermentación.

Con relación a los efectos benéficos sobre la salud de los consumidores se resalta la capacidad anticancerígena, el control de microorganismos patógenos y el control de la respuesta inmunológica y antiinflamatoria. Por su parte en alimentos se destaca su uso para el control del crecimiento de hongos y el control de la producción de micotoxinas que podrían ayudar al desarrollo de nuevos productos farmacéuticos y alimentarios.

Por último, el fermento de Kéfir en sus diferentes sustratos es un producto de bajo costo que puede ser producido de forma casera aplicando buenas prácticas higiénicas y consumido sin contraindicaciones por su historia de uso y sus beneficios que están siendo demostrados por diferentes investigaciones científicas.

Bibliografía

- [1] Farfán, L., Hoyos, L. M. (2010). Sensibilidad a antibióticos y productos cúpricos de bacterias fitopatógenas asociadas a bacteriosis en pasifloras. In Memorias: Primer Congreso Latinoamericano de Passiflora. Neiva (p. 92).
- [2] World Health Organization. (2017). Antibacterial agents in clinical development: an analysis of the antibacterial clinical development pipeline, including tuberculosis.
- [3] Olivo, D., Galván, M., López-Rodríguez, G., Suárez-Diéguez, T., González-Unzaga, M., Anaya-Cisneros, L., & López-Piña (2017), D. Actividad biológica y potencial terapéutico de los probióticos y el kefir del grano de kéfir. Revista Iberoamericana de Ciencias.
- [4] Silva, K. R., Rodrigues, S. A., Filho, L. X. (2009). Antimicrobial activity of broth fermented with Kéfir grains. *Appl Biochem Biotech*, 152(2), 316–325.
- [5] De la Mano, L. G., Kaimen, A. L., López, F., Moreno, L. I., Alfageme, C., & Drolas, C. (2019). Descripción y análisis de las técnicas de producción de Kéfir. *Rev. Nutr. Argentina*, 309-349.
- [6] Golowczyc, M. A., Mobili, P., Garrote, G. L., Abraham, A. G., & De Antoni, G. L. (2007). Protective action of *Lactobacillus Kefir* carrying S-layer protein against *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *International journal of food microbiology*, 118(3), 264-273.

- [7] Ghane, M., Babaeekhou, L., & Ketabi, S. S. (2020). Antibiofilm activity of Kéfir probiotic lactobacilli against uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC). *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, 12(4), 221.
- [8] Jeong, D., Kim, D. H., Song, K. Y., & Seo, K. H. (2018). Antimicrobial and anti-biofilm activities of *Lactobacillus Kefiranofaciens* DD2 against oral pathogens. *Journal of Oral Microbiology*, 10 (1), 1472985.
- [9] Raras, T. Y. M., Firdausy, A. F., Kinanti, I. R., & Noorhamdani, N. (2019). Anti-Biofilm Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Kéfir Against Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 13(2), 983-993.
- [10] Yusuf, D., Nuraida, L., Dewanti-Hariyadi, R., & Hunaefi, D. (2020). In Vitro Characterization of Lactic Acid Bacteria from Indonesian Kefir Grains as Probiotics with Cholesterol-Lowering Effect. *Journal of Microbiology and Biotechnology*.
- [11] Carasi, P., Díaz, M., Racedo, S. M., De Antoni, G., Urdaci, M. C., & Serradell, M. D. L. Á. (2014). Safety characterization and antimicrobial properties of kefir-isolated *Lactobacillus kefir*. *BioMed Research International*, vol. 2014.
- [12] Koh, W. Y., Utra, U., Ahmad, R., Rather, I. A., & Park, Y. H. (2018). Evaluation of probiotic potential and anti-hyperglycemic properties of a novel *Lactobacillus* strain isolated from water Kéfir grains. *Food science and biotechnology*, 27(5), 1369-1376.
- [13] Leite, A. M., Miguel, M. A. L., Peixoto, R. S., Ruas-Madiedo, P., Paschoalin, V. M. F., Mayo, B., & Delgado, S. (2015). Probiotic potential of selected lactic acid bacteria strains isolated from Brazilian Kéfir grains. *Journal of dairy science*, 98(6), 3622-3632.
- [14] Gut, A. M., Vasiljevic, T., Yeager, T., & Donkor, O. N. (2022). Anti-salmonella properties of Kéfir yeast isolates: An in vitro screening for potential infection control. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(1), 550-563.
- [15] Kim, D. H., Kim, H., & Seo, K. H. (2020). Microbial composition of Korean Kéfir and antimicrobial activity of *Acetobacter fabarum* DH1801. *Journal of Food Safety*, 40(1), e12728.
- [16] Marques, V. D., Franzolin, M. R., Sanabani, S. S., Vigerelli, H., Piazza, R. M. F., Pimenta, D. C., ... & de Oliveira Domingos, M. (2020). A new class of antimicrobial molecules derived from Kéfir, effective against *Pseudomonas aeruginosa* and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains. *Scientific reports*, 10(1), 1-13.
- [17] Dias, P. A., Silva, D. T., & Timm, C. D. (2018). Antimicrobial activity of microorganisms isolated from kefir grains. *Ciência Animal Brasileira*, vol. 19.
- [18] Sirirat, D., & Jelena, P. (2010). Bacterial inhibition and antioxidant activity of Kéfir produced from Thai jasmine rice milk. *Biotechnology*, 9(3), 332-337.
- [19] Vahabzadeh, S., & ÖZPINAR, H. (2018). Investigation of some biochemical properties, antimicrobial activity and antibiotic resistances of kefir supernatants and

Lactococcus lactis ssp. *lactis* strains isolated from raw cow milk and cheese samples. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, vol. 24(3).

[20] Vélez, Caro C. A., & Peláez, León Á. M. (2014). Inhibición del crecimiento de *Aspergillus ochraceus* mediante "panela" fermentada con gránulos de Kéfir de agua. *Vitae*, 21(3), 191-200.

[21] Larosa, C. P., Balthazar, C. F., Guimarães, J. T., Margalho, L. P., Lemos, F. S., Oliveira, F. L., ... & Cruz, A. G. (2021). Can sucrose-substitutes increase the antagonistic activity against foodborne pathogens and improve the technological and functional properties of sheep milk Kéfir. *Food Chemistry*, 351, 129290.

[22] Iraporda, C., Júnior, M. A., Neumann, E., Nunes, Á. C., Nicoli, J. R., Abraham, A. G., & Garrote, G.L. (2017). Biological activity of the non-microbial fraction of Kéfir: antagonism against intestinal pathogens. *Journal of Dairy research*, 84(3), 339-345.

[23] AbdEl-Mogheith, S., El-Gendy, A. O., Sultan, S., & El-Nesr, K. A. (2017). Exploring the antimicrobial and hepatoprotective effects of Kéfir; a probiotic fermented milk. *J. Pure Appl. Microbiol*, 11, 759-772.

[24] de Lima, M. D. S. F., da Silva, R. A., da Silva, M. F., da Silva, P. A. B., Costa, R. M. P. B., Teixeira, J. A. C., ... & Cavalcanti, M. T. H. (2018). Brazilian Kéfir-fermented sheep's milk, a source of antimicrobial and antioxidant peptides. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 10(3), 446-455.

[25] Al-Mohammadi, A. R., Ibrahim, R. A., Moustafa, A. H., Ismaiel, A. A., Abou Zeid, A., & Enan, G. (2021). Chemical constitution and antimicrobial activity of Kéfir fermented beverage. *Molecules*, 26(9), 26 - 35.

[26] Santos, J. P. V., Araújo, T. F., Ferreira, C. L. D. L. F., & Goulart, S. M. (2013). Evaluation of antagonistic activity of milk fermented with Kéfir grains of different origins. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56(5), 823-827.

[27] Kim, D. H., Jeong, D., Kim, H., Kang, I. B., Chon, J. W., Song, K. Y., & Seo, K. H. (2016). Antimicrobial activity of kefir against various food pathogens and spoilage bacteria. *Korean journal for food science of animal resources*, vol. 36(6), p. 787.

[28] Sindi, A., Badsha, M., Nielsen, B., & Ünlü, G. (2020). Antimicrobial activity of six international Artisanal Kefirs against *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* serovar Enteritidis, and *Staphylococcus aureus*. *Microorganisms*, vol. 8(6), p. 849.

[29] Gonda, M., Garmendia, G., Rufo, C., León Peláez, Á., Wisniewski, M., Droby, S., & Vero, S. (2019). Biocontrol of *Aspergillus flavus* in ensiled sorghum by water kefir microorganisms. *Microorganisms*, vol. 7(8), p. 253.

[30] Badr El-Din, N. K., Shabana, S. M., Abdulmajeed, B. A., & Ghoneum, M. (2020). A novel Kéfir product (PFT) inhibits Ehrlich ascites carcinoma in mice via induction of apoptosis and immunomodulation. *BMC complementary medicine and therapies*, 20(1), 1-12.

- [31] Bozkurt, E., Atay, E., Pektaş, G., Ertekin, A., Vurmaz, A., Korkmaz, Ö. A., ... & Pektaş, M. B. (2020). Potential anti-tumor activity of Kéfir-induced juglone and resveratrol fractions against ehrlich ascites carcinoma-bearing balb/c mice. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, vol.19(3), p. 358.
- [32] Ma'mon, M. H., Nuirat, A., Zihlif, M. A., & Taha, M. O. (2018). Exploring the influence of culture conditions on Kéfir's anticancer properties. *Journal of Dairy Science*, 101 (5), 3771-3777.
- [33] de Almeida Brasiel, P. G., Luquetti, S. C. P. D., Medeiros, J. D., do Amaral Corrêa, J. O., Machado, A. B. F., Moreira, A. P. B., ... & Peluzio, M. D. C. G. (2022). Kéfir modulates gut microbiota and reduces DMH-associated colorectal cancer via regulation of intestinal inflammation in adulthood offsprings programmed by neonatal overfeeding. *Food Research International*, vol. 152, p. 110708.
- [34] Bolla, P. A., Abraham, A. G., Pérez, P. F., & de Los Angeles Serradell, M. (2016). Kéfir-isolated bacteria and yeasts inhibit *Shigella flexneri* invasion and modulate pro-inflammatory response on intestinal epithelial cells. *Beneficial microbes*, 7(1), 103-110.
- [35] Gamba, R. R., Caro, C. A., Martínez, O. L., Moretti, A. F., Giannuzzi, L., De Antoni, G. L., & Peláez, A. L. (2016). Antifungal effect of Kéfir fermented milk and shelf-life improvement of corn arepas. *International Journal of Food Microbiology*, 235 (1), 85-92.
- [36] Chen, Y. P., Lee, T. Y., Hong, W. S., Hsieh, H. H., & Chen, M. J. (2013). Effects of *Lactobacillus Kefiranofaciens* M1 isolated from Kéfir grains on enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection using mouse and intestinal cell models. *Journal of dairy science*, 96 (12), 7467-7477.
- [37] Fouladgar, S., Shahraki, A. F., Ghalamkari, G. R., Khani, M., Ahmadi, F., & Erickson, P. S. (2016). Performance of Holstein calves fed whole milk with or without Kéfir. *Journal of Dairy Science*, 99 (10), 8081-8089.
- [38] Kim, D. H., Chon, J. W., Kang, I. B., Kim, H., Kim, H. S., Song, K. Y., & Seo, K. H. (2015). Growth inhibition of *Cronobacter sakazakii* in experimentally contaminated powdered infant formula by Kéfir supernatant. *Journal of Food Protection*, 78(9), 1651-1655.
- [39] Izzo, L., Luz, C., Ritieni, A., Mañes, J., & Meca, G. (2020). Whey fermented by using *Lactobacillus plantarum* strains: A promising approach to increase the shelf life of pita bread. *Journal of Dairy Science*, 103 (7), 5906-5915.
- [40] Taheur, F. B., Fedhila, K., Chaieb, K., Kouidhi, B., Bakhrouf, A., & Abrunhosa, L. (2017). Adsorption of aflatoxin B1, zearalenone and ochratoxin A by microorganisms isolated from Kéfir grains. *International journal of food microbiology*, 251 (1), 1-7.
- [41] Du, G., Liu, L., Guo, Q., Cui, Y., Chen, H., Yuan, Y., ... & Yue, T. (2021). Microbial community diversity associated with Tibetan kefir grains and its detoxification of Ochratoxin A during fermentation. *Food Microbiology*, vol. 99, p. 103803.