

Actividad biológica y potencial terapéutico de los probióticos y el kefiran del grano de kéfir

Diana Olivo¹, Marcos Galván¹, Guadalupe López-Rodríguez¹, Teodoro Suárez-Diéguez¹,
Marco González-Unzaga¹, Lizbeth Anaya-Cisneros² y Dulce López-Piña²
Cuerpo Académico de Epidemiología Nutricional y Molecular¹. Área Académica de Nutrición²
Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
Pachuca, Hgo.; México
[diana_olivo, tsuarez] @uaeh.edu.mx, mgalvan73@hotmail.com,
[glopez.dra, marcounzaga, lizbeth.sonor7, liliana.uaeh]@gmail.com

Abstract— Kefir is a dairy beverage similar to yogurt, produced by the fermentation of the kefir grain in the milk. Kefir grain contains probiotics and the kefiran prebiotic which contribute to wellness and human health associated to kefir consumption. The aim of this paper is review the recent literature about biological and therapeutic activity of the probiotics and prebiotics of kefir and collect this information to evince it and increase interest in this area of research. Our review provides an overview of biological activity and potential therapeutic applications of *Lactobacillus kefiranofaciens*, *L. casei* and *L. paracasei* and kefiran, kefir's main probiotics and prebiotic.

Keyword— kefir grain, *L. kefiranofaciens*, *L. casei*, *L. paracasei*, kefiran

Resumen— El kéfir es una bebida láctea similar al yogurt, producida por la fermentación del grano de kéfir en la leche. El grano de kéfir contiene probióticos y el prebiótico kefiran, los cuales contribuyen al bienestar y a la salud humana asociados con el consumo de kéfir. El objetivo de este trabajo es revisar la literatura sobre la actividad biológica y terapéutica de los prebióticos y probióticos del kéfir y recopilar esta información para darla a conocer y despertar el interés en esta área de investigación. Nuestra revisión proporciona una perspectiva general sobre la actividad biológica y las potenciales aplicaciones terapéuticas de los *Lactobacillus kefiranofaciens*, *L. casei* y *L. paracasei* y del kefiran, probióticos y prebióticos principales del kéfir.

Palabras claves—grano de kéfir, *L. kefiranofaciens*, *L. casei*, *L. paracasei*, kefiran.

I. INTRODUCCIÓN

La palabra probiótico significa “a favor de la vida” y actualmente este término se utiliza para designar las bacterias que tienen efectos benéficos para los seres humanos y los animales [1]. A inicios del siglo XX, en 1907, este concepto fue propuesto por quien fue llamado padre de la inmunología innata: Elie Metchnikoff, quien también fue ganador del premio Nobel de medicina. Este microbiólogo atribuyó la inusual alta longevidad de algunos residentes de Europa del Este, a su consumo de grandes cantidades de un producto lácteo fermentado (parecido al yogurt) que contenía “bacterias benéficas” que al impactar en la microbiota intestinal contribuían al estado de salud y longevidad [2]. Metchnikoff afirmó que “la dependencia de los microbios intestinales con respecto a los alimentos hace posible adoptar medidas para modificar la flora de nuestro organismo y sustituir los microbios nocivos por microbios útiles” [3].

Desde que este término fue acuñado, han surgido diversas definiciones para éste, no obstante la utilización del término probiótico se refiere a los productos que contienen microorganismos vivos y de los cuales existe la necesidad de proporcionar una dosis apropiada de bacterias probióticas para obtener los efectos deseados [1]. Al hablar de probióticos, nos referimos a cepas de microorganismos, bacterias o levaduras, que están presentes en cantidad suficiente en algunos alimentos (la fuente más conocida de

probióticos son los productos lácteos fermentados) e incluso suplementados en medicamentos o complementos dietéticos, cuyo consumo mejora la salud del huésped [4].

Podemos comprender mejor la importancia para la salud del concepto de alimento probiótico, si consideramos que algunas bacterias viven “normalmente” en el cuerpo humano (así como en el de los animales superiores y los insectos), incluido el aparato digestivo [5]. Estos microorganismos que forman la denominada microflora, o microbiota, intestinal residente, no suelen tener efectos nocivos agudos, por el contrario, son necesarios para mantener el bienestar de su huésped al evitar la colonización de esas mismas zonas intestinales por microorganismos ingeridos, incluidos patógenos (a este mecanismo se le ha llamado efecto barrera o resistencia a la colonización [6]. Los probióticos mejoran la función de la barrera intestinal, promoviendo el crecimiento de la microflora residente y la proliferación de células epiteliales, previniendo la adhesión y colonización de patógenos y la absorción de toxinas [7].

Mientras que los probióticos son microorganismos vivos, principalmente bacterias [1], los prebióticos son alimentos biológicamente activos, como carbohidratos, que al ser fermentados por las bacterias intestinales, promueven el crecimiento, modifican la actividad y la composición de la microbiota intestinal [8]. Al igual que los probióticos, los prebióticos controlan el desequilibrio en la flora intestinal o disbiosis bacteriana, induciendo el crecimiento de bacterias benéficas y fortaleciendo el mecanismo de efecto barrera de la microbiota intestinal [7].

La mayoría de los alimentos que contienen probióticos y prebióticos son productos lácteos fermentados muchos de los cuales han sido consumidos por el hombre durante siglos. El kéfir, o yogur de búlgaros, es una de estas bebidas lácteas fermentadas cuyos beneficios a la salud son ampliamente conocidos desde hace cientos de años, por poblaciones cercanas a las montañas del Cáucaso (en Europa del Este) lugar donde es originario este producto [9].

Si bien el consumo de kéfir no es tan popular en el mundo, comparado por ejemplo con el yogurt o el queso, esta bebida de sabor ligeramente ácido y consistencia cremosa se ha ido popularizando debido a que se le han atribuido diversos beneficios a la salud [10]. Aunque de manera tradicional son conocidas estas propiedades benéficas, poco se conoce sobre la actividad y seguridad biológica de sus probióticos y prebióticos contenidos, los cuales son responsables de sus propiedades terapéuticas. Para observar los efectos terapéuticos del kéfir en los consumidores, es necesario el consumo de una dosis apropiada de bacterias probióticas o de prebióticos, para lo cual se necesita aumentar la investigación básica y clínica en este campo. Los resultados de esta emergente área de investigación nos permitirán aprovechar de manera segura las propiedades benéficas de estos agentes biológicos y químicos del kéfir. El objetivo de este trabajo es reunir la principal evidencia científica sobre la actividad biológica y potenciales aplicaciones terapéuticas de los principales lactobacilos probióticos y del prebiótico kefiran, con el fin de informar y promover en la población el consumo de kéfir y a su vez despertar el interés científico para la explotación y aprovechamiento de esta área de investigación.

En esta contribución hablaremos de manera general sobre el kéfir (sus características y composición), comentaremos sobre las directrices para la evaluación de los microorganismos probióticos y finalmente presentaremos las principales evidencias que denotan la actividad biológica y las potenciales aplicaciones terapéuticas de tres lactobacilos principales del kéfir (*Lactobacillus kefirianofaciens*, *L. casei* y *L. paracasei*) y del prebiótico kefiran.

II. CARACTERÍSTICAS Y COMPOSICIÓN MICROBIANA DE LOS GRANOS DE KÉFIR

La palabra kéfir proviene del vocablo turco *keyif*, que significa “sentirse bien”; la bebida fue nombrada así debido a la grata sensación percibida después de su consumo [9].

Históricamente entre los musulmanes de las montañas caucásicas de Rusia, los granos de kéfir se consideraron “un regalo de Alá” y parte de la riqueza de la familia [11]. Físicamente los granos son de tamaño variable (desde 0.3 hasta 3.0 cm de diámetro), color blanco a blanco amarillento, forma irregular, superficie multilobular unida por una única sección central, y textura firme, elástica y viscosa, de aspecto semejante a una mini-coliflor o palomitas de maíz [12].

Estructuralmente los granos de kéfir, también conocidos como búlgaros, se componen de varias especies de bacterias y levaduras, que coexisten en asociaciones simbióticas, rodeadas e inmovilizadas por una matriz de polisacáridos solubles, lípidos y proteína que cuando entra en contacto con la leche forma un producto gelatinoso conocido como kefiran [11]. La población de levaduras en el grano sintetiza metabolitos bioactivos esenciales para su crecimiento y para inhibir microorganismos, patógenos y contaminantes alimentarios. En general, los géneros bacterianos presentes en los granos de kéfir incluyen *Lactobacillus* (*L.*), *Leuconostoc*, *Lactococcus* y *Acetobacter*; los géneros de levadura incluyen *Kluyveromyces*, *Candida*, *Saccharomyces*, *Torulaspota*, *Kazachstania*, *Lachancea* y *Yarrowia*. Diversos estudios dependientes e independientes de métodos de cultivo han revelado que las especies de bacteria y de levadura presentes en los granos, varían dependiendo del origen geográfico, del sustrato de propagación, de la temperatura de incubación y de los métodos utilizados para el aislamiento [11, 12].

A pesar de las variaciones en la composición microbiana de los kéfires producidos en todo el mundo, estos han demostrado tener propiedades para la mejora de la salud, por su contenido de probióticos y del prebiótico kefiran [13]. Entre los probióticos más importantes presentes en el grano de kéfir destaca *L. kefiranofaciens*, *L. casei* y *L. paracasei* [13, 14]; para estas tres especies de *Lactobacillus* se presenta la evidencia científica que respalda sus beneficios a la salud; asimismo, se explicarán los beneficios del kefiran.

III. DIRECTRICES PARA LA EVALUACIÓN DE LOS PROBIÓTICOS

Antes de analizar las evidencias que comprueban los efectos positivos en el estado de salud de las tres principales especies del género *Lactobacillus* presentes en el kéfir, revisaremos brevemente las directrices para evaluar las propiedades de los probióticos.

- 1) Capacidad para sobrevivir al paso por el aparato digestivo y de proliferación en el intestino. Esto significa que deberían ser resistentes a los jugos gástricos y poder crecer en presencia de bilis, en las condiciones existentes en los intestinos, o bien, ser consumidos en un alimento que, actuando como vehículo, les permita sobrevivir al paso por el estómago y a la exposición a la bilis.
- 2) Capacidad de adhesión al epitelio intestinal para colonizarlo, al menos transitoriamente.
- 3) Exhibir actividades antimicrobianas que eviten la proliferación de cepas patógenas u oportunistas, una vez colonizado el intestino.

La evaluación de estos aspectos funcionales de los probióticos se lleva a cabo inicialmente *in vitro* y posteriormente *in vivo* en modelos animales, previa identificación molecular de las cepas de los microorganismos a evaluar [1].

IV. BENEFICIOS A LA SALUD DE LOS PRINCIPALES PROBIÓTICOS DEL GRANO DE KÉFIR

A. *Lactobacillus kefiranofaciens*

Este lactobacilo es un factor clave en la formación del grano y la producción de kefiran. La evaluación de los aspectos funcionales de este microorganismo como probiótico fue realizada por Ferreira-Zanirati y colaboradores (2015) [13].

Estudios realizados en ratones han reportado que tras 2 semanas de administración oral de *L. kefiranofaciens* la población de familias que forman parte de la microbiota intestinal, tales como *Bifidobacteriaceae*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Lactobacillus* y *Prevotella*, aumentó significativamente mientras que disminuyó el grupo de patógenos oportunistas: *Phylum Proteobacteria* y *Enterobacteriaceae* [15, 16]. Adicionalmente, se observó que esta especie de lactobacilo se adhiere con éxito a la mucosa intestinal colonizando el íleon, factor que favorece el crecimiento de bacterias del género *Butyrivibrio* y *Pseudobutyrvibrio*, productoras de ácido butírico al cual se le han atribuido propiedades antiinflamatorias y un importante papel en la función de barrera intestinal [16]. En el estudio realizado por Jeon y colaboradores (2017) la evidencia sugiere que la administración regular de *L. kefiranofaciens* podría aliviar el estreñimiento ya que las heces de ratones a los que se les administró este lactobacilo mostraron un mayor peso fecal total y un mayor contenido de agua fecal, comparado con los controles [15].

Los efectos de la administración de *L. kefiranofaciens* sobre los mecanismos inflamatorios y la restauración de la barrera epitelial intestinal fueron estudiados en modelos animales de colitis *in vitro* e *in vivo*. Los resultados demuestran que este lactobacilo fortalece la función de la barrera epitelial *in vitro* y mejora la colitis *in vivo* atenuando significativamente la puntuación de sangrado y el acortamiento de la longitud del colon. Adicionalmente, la administración de este microorganismo probiótico en los ratones del modelo de colitis inducida, redujo la producción de citoquinas proinflamatorias e incrementó la de la citocina antiinflamatoria IL-10 [17].

Estos hallazgos sugieren claramente que el consumo de *L. kefiranofaciens* mejora la función de la barrera intestinal, disminuye el estreñimiento y posee un evidente efecto anti-colitis, teniendo así el potencial de ser aplicado en productos lácteos fermentados como una terapia alternativa para trastornos intestinales [15-17].

B. *Lactobacillus casei*

La evaluación de los aspectos funcionales de este microorganismo como probiótico fue realizada en Ferreira-Zanirati y colaboradores (2015) [13]. No obstante en 2006, se evaluó clínicamente la eficacia y seguridad de una mezcla de cuatro cepas probióticas (*Lactobacillus rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. casei* y *Bifidobacterium lactis*), en pacientes con dermatitis atópica. Después de 8 semanas de tratamiento con probióticos, el 50% de los pacientes mostraron menor inflamación cutánea y experimentaron disminución de prurito, observaciones que sugieren que el tratamiento con la mezcla de las cuatro cepas probióticas, incluido *L. casei*, podría ser útil para el manejo de la dermatitis atópica en niños, adolescentes y adultos [18].

El efecto del tratamiento oral con la bacteria probiótica *L. casei* sobre ciertos receptores, citoquinas y tipos celulares involucrados en la respuesta inmune de la mucosa intestinal fue investigado en roedores. Los resultados observados en este estudio indican que, mientras el número de células T no se vio afectado por el tratamiento, las principales células inmunes activadas después de la administración del lactobacilo fueron las involucradas en la respuesta inmune innata (macrófagos y células dendríticas), observación que corresponde con el aumento en los marcadores específicos de estas células: CD-206 y

TLR-2. Estos hallazgos sugieren que la cepa probiótica *L. casei* induce la activación inmunológica de la mucosa intestinal a través de la promoción de respuestas inmunológicas innatas [19].

Por otro lado, el efecto del consumo de probióticos en el control de la respuesta glicémica y perfil lipídico se ha estudiado tanto en modelos animales de diabetes como en pacientes diabéticos. En un modelo experimental de inducción de hiperglucemia en ratas, se encontró que, comparado con el control, la suplementación en la dieta de una bebida láctea fermentada que contenía *L. acidophilus* y *L. casei*, retrasó significativamente el inicio de la intolerancia a la glucosa, la hiperglucemia, la hiperinsulinemia, la dislipidemia y el estrés oxidativo en el tejido pancreático y hepático, hallazgos que sugieren un menor riesgo de diabetes y sus complicaciones [20]. Recientemente en un ensayo clínico se exploró el efecto de la ingestión diaria de una bebida fermentada (kéfir) sobre la glucosa basal, la hemoglobina glicosilada y el perfil lipídico de pacientes con diagnóstico de diabetes tipo 2. El kéfir suplementado contenía los probióticos *L. casei*, *L. acidophilus* y Bifidobacteria. Después de ocho semanas de intervención, no se observaron efectos significativos en el perfil lipídico de los pacientes, no obstante, su glucosa basal y la hemoglobina glicosilada disminuyó significativamente en comparación con los valores obtenidos para estos analitos tanto al inicio del tratamiento como con el grupo de control. Estos resultados sugieren la utilidad que la bebida probiótica fermentada puede tener como complemento o adyuvante en el tratamiento para el control de la diabetes tipo 2 [21].

Los hallazgos anteriores evidencian el potencial terapéutico del *L. casei*, junto con otras cepas probióticas, como auxiliar en el manejo de los síntomas de la dermatitis atópica y coadyuvante en el control de la diabetes tipo 2 [18, 20, 21]. Asimismo, la evidencia citada muestra la participación de esta especie de lactobacilo como promotor de la activación de respuesta innata en la mucosa intestinal [19].

C. *Lactobacillus paracasei*

Leite y colaboradores (2015) condujeron un estudio para evaluar *in vitro* las propiedades probióticas de este lactobacilo del kéfir. Sus resultados indican que, el *L. paracasei* posee una alta capacidad antioxidante, gran capacidad de adhesión a la mucosa intestinal, altas actividades β -galactosidasa, α y β -glucosidasa. Según los autores de este ensayo, sus observaciones indican que este lactobacilo puede ser un buen colonizador de la mucosa intestinal y ayudar a proteger las células del daño oxidativo, reducir la intolerancia a la lactosa y contribuir a la digestión de polisacáridos. Por lo anterior, el *L. paracasei* se consideró como el candidato derivado del kéfir más apropiado para ser usado como probiótico [14].

Otro ensayo realizado *in vitro* reportó que cepas de *L. paracasei*, aisladas del kéfir de leche fueron capaces de antagonizar el daño celular al citoesqueleto y la invasión al enterocito provocados por la infección por Salmonella [22]. Lo anterior muestra el potencial del *L. paracasei* para ser utilizado como probiótico y coadyuvante en el tratamiento y prevención de la salmonelosis [14, 22].

V. BENEFICIOS A LA SALUD DEL PRINCIPAL PREBIÓTICO DEL GRANO DE KÉFIR

Como ya se ha mencionado, el grano del kéfir cuando entra en contacto con la leche forma un producto gelatinoso conocido como kefiran, el cual es un polisacárido (compuesto por glucosa y galactosa) producido por algunos de los lactobacilos embebidos en la matriz del grano [23]. Como prebiótico, el kefiran promueve el crecimiento de bacterias benéficas, modificando la actividad y composición de la microbiota intestinal [7]. Evidencia experimental sugiere que el kefiran podría ejercer una influencia efectiva en la agregación, adhesión y supervivencia de las bacterias probióticas [16]. En un ensayo realizado en murinos donde fue evaluado el efecto de la administración oral de kefiran sobre la población de bacterias de la microbiota intestinal, se reportó un aumento en el número de

bifidobacterias en heces. Este hallazgo sugiere que el kefiran puede ser utilizado como un ingrediente funcional bifidogénico [24].

Por otra parte, el potencial terapéutico del kefiran se ha explorado en función de las propiedades antimicrobianas y cicatrizantes de este exopolisacárido. En un estudio conducido por Rodrigues en 2005 se reportó que tanto el kéfir como el kefiran poseen actividad antimicrobiana contra diversas especies bacterianas y *Candida albicans* al ser evaluados en un medio de agar de difusión. Además de demostrar actividad contra una amplia gama de bacterias, siendo la más alta contra *Streptococcus pyogenes*, este mismo estudio demostró que un gel hecho a base de liofilizados de kefiran posee propiedades cicatrizantes y protectoras del tejido conectivo al promover la sanación y evitar la formación de cicatrices en heridas de la piel, provocadas en roedores por *Staph. aureus* [25]. En otro experimento realizado por este mismo grupo de investigación, se demostraron las propiedades antiinflamatorias del kéfir y del kefiran, al observarse inhibición de la formación de tejido de granuloma y reducir la inflamación en un modelo animal de granuloma y edema inducidos [26].

Un amplio estudio realizado en distintos modelos animales de hipertensión, diabetes y constipación demostró el efecto del kefiran sobre la presión, lípidos y glucosa sanguíneos, y el estreñimiento. En las ratas del modelo de hipertensión, el grupo tratado con kefiran mostró una menor presión arterial y una menor concentración de lípidos en hígado y sangre, comparado con el control. En los ratones del modelo genético de diabetes después de 30 días de tratamiento con kefiran, se observaron niveles de glucosa sanguínea significativamente más bajos, en comparación del grupo control. En el modelo de ratas con constipación inducida, la humedad y peso fecal aumentó de una manera dosis-dependiente de kefiran, demostrando que la administración de este polisacárido es efectiva en el aumento de la defecación [27].

Adicionalmente, un estudio realizado en conejos ha sugerido que, debido a sus propiedades antiinflamatorias y antioxidantes, el kefiran podría prevenir el inicio y desarrollo de la aterosclerosis. En este ensayo se observó que después de 8 semanas de administración oral de kefiran, los animales con este tratamiento, en comparación con los controles, no reportaron linfocitos T en la aorta además que mostraron menos lesiones ateroscleróticas en esta arteria y menor cantidad de colesterol en el hígado [28].

La anterior evidencia muestra las potenciales aplicaciones terapéuticas del exopolisacárido kefiran, para controlar la presión arterial, la prevención de aterosclerosis, el control de concentraciones de lípidos en hígado y sangre, el control de la glucosa sanguínea, la disminución del estreñimiento, el restablecimiento del equilibrio en la microbiota intestinal, la reducción de la inflamación, la promoción de la cicatrización y prevención y tratamiento de infecciones de la piel, entre otras [7, 16, 24-28].

VI. CONCLUSIONES

Los beneficios a la salud del kéfir han resultado notables en las poblaciones que las consumen tradicionalmente desde hace varios siglos. Actualmente el grano del kéfir es reconocido como una fuente de probióticos y del probiótico kefiran de los que se posee abundante evidencia de sus propiedades biológicas y potenciales aplicaciones terapéuticas. Entre las propiedades biológicas del kefiran y de los microorganismos caracterizados como probióticos del kéfir, entre los que destacan tres especies de lactobacilos: *L. kefiranofaciens*, *L. casei* y *L. paracasei*, se han comprobado propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, inmunológicas, bifidogénicas, antioxidantes, enzimáticas, hipoglicemiantes, hipolipémicas e hipotensivas, con potenciales aplicaciones en el tratamiento de afecciones tales como dermatitis atópica, aterosclerosis, diabetes, hipertensión, estreñimiento, infecciones intestinales e infecciones de la piel, colitis, estreñimiento, trastornos digestivos e

intolerancia a la lactosa. Los hallazgos sobre las potenciales aplicaciones terapéuticas de los agentes biológicos y químicos del kéfir denotan la necesidad de continuar las investigaciones y ensayos clínicos que consoliden la evidencia de sus propiedades terapéuticas para el seguro desarrollo de productos farmacéuticos y alimenticios encaminados a preservar la salud humana.

RECONOCIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con el apoyo al proyecto PRODEP UAEH-CA-86, 2016.

REFERENCIAS

- [1] FAO/OMS. (2006). Probióticos en los alimentos: propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. Italia, Roma: FAO: OMS.
- [2] Ayala, F. R., Bauman, C., Cogliati, S., Leñini, C., Bartolini, M. y Grau, R. (2017). Microbial flora, probiotics, *Bacillus subtilis* and the search for a long and healthy human longevity. *Nature Communications*, 14332(8), 133-136.
- [3] Metchnikoff, E. (1908). The prolongation of life: optimistic studies. En: Mitchell PC (ed), *Arno press, literature of death and dying* (1977th ed). New York: The Knickerbocker Press.
- [4] Oliveira, G. y González-Molero I. (2007). Probióticos y prebióticos en la práctica clínica. *Nutrición Hospitalaria*, 22(Supl. 2), 26-34.
- [5] Tannock, G.W. (1999). Analysis of the intestinal microflora: A renaissance. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76, 265-278.
- [6] Vollaard, E.J. y Clasener, H.A. (1994). Colonization resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 38, 409-414.
- [7] Ferial, M.G., Taborda, N.A., Hernandez, J.C. y Rugeles, M. T. (2017). Efecto de la terapia con probióticos/prebióticos sobre la reconstitución del tejido linfóide asociado a la mucosa gastrointestinal durante la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana-1. *Revista Médica de Chile*, 145, 219-229.
- [8] Manning, T. y Gibson, G. (2004). Prebiotics. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 18(2), 287-298.
- [9] Tamime, A.Y. (2006). Production of Kefir, Koumiss and Other Related Products. En: Tamime, A.Y. (ed.), *Fermented Milk* (pp.174-216). UK, Oxford: Blackwell Science Ltd
- [10] Bourrie, B., Willing, B., y Cotter, P. (2016). The microbiota and health promoting characteristics of the fermented beverage kefir. *Frontiers in Microbiology*, (7), 647-658.
- [11] Lopitz-Otsoa, F., Rementeria, A., Elguezal, N. y Garaizar, J. (2006). Kefir: A symbiotic yeast-bacteria community with all aged healthy capabilities. *Revista Iberoamericana de Micología*, 23(2), 67-74.
- [12] Machado de Oliveira-Leite, A., Lemos-Miguel, M.A., Silva-Peixoto, R., Soares-Rosado, A., Trajano-Silva, J. y Flosi-Paschoalin, V.M. (2013). Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(2), 341-349.
- [13] Ferreira-Zanirati, D., Abatemarco, M., Henrique de Cicco-Sandes, S., Robert-Nicoli, J., Cantini-Nunes, A., y Neumann, E. (2015). Selection of lactic acid bacteria from Brazilian kefir grains for potential use as starter or probiotic cultures. *Clinical microbiology*, (32), 70-76.
- [14] Leite, A., Miguel, M., Peixoto, R., Ruas-Madiedo, P., Paschoalin, V., Mayo, B. y Delgado, S. (2015). Probiotic potential of selected lactic acid bacteria strains isolated from Brazilian kefir grains. *Journal of Dairy Science*, 98(6), 3622-3632.
- [15] Jeong, D., Kim, D.H., Kang, I.B., Kim, H., Song, K.Y., Kim, H.S., Seo, K.H., Xing, Z., Tang, W., Geng, W., Zheng, Y. y Wang, Y. (2017). Modulation of gut microbiota and increase in fecal water content in mice induced by administration of *Lactobacillus kefirifaciens* DN1. *Food & Function*, 22;8(2), 680-686.

- [16] Xing, Z., Tang, W., Geng, W., Zheng, Y., y Wang, Y. (2016). In vitro and in vivo evaluation of the probiotic attributes of *Lactobacillus kefirifaciens* XL10 isolated from Tibetan kefir grain. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(6), 2467–2477.
- [17] Chen, Y., Hsiao, P., Hong, W., Dai, T. y Chen, M. (2012). *Lactobacillus kefirifaciens* M1 isolated from milk kefir grains ameliorates experimental colitis in vitro and in vivo. *Journal of Dairy Science*, 95(1), 63–74.
- [18] Yim, J.H., Duk, K.H., Ja, K.K., Yoonsung, K., Mi-Yeon, K., Hyung, K.O., Myung-Jun, C. y Young, M.P. (2006). Therapeutic Effects of probiotics in patients with atopic dermatitis. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16(11), 1699–1705.
- [19] Maldonado, C. G. y Perdigo, G. (2006). The probiotic bacterium *Lactobacillus casei* induces activation of the gut mucosal immune system through innate immunity. *Clinical and Vaccine Immunology*, 13(2), 219–226.
- [20] Yadav, H., Jain, S. y Sinha, P.R. (2007). Antidiabetic effect of probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in high fructose fed rats. *Nutrition*, 23(1), 62–68.
- [21] Ostadrahimi, A., Taghizadeh, A., Mobasser, M., Farrin, N., Payahoo, L., Beyramalipoor, G.Z y Vahedjabbari, M. (2015). Effect of probiotic fermented milk (kefir) on glycemic control and lipid profile in type 2 diabetic patients: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Iranian Journal of Public Health*, 44(2), 228–37.
- [22] Zavala, L., Golowczyc, M.A., van Hoorde, K., Medrano, M., Huys, G., Vandamme, P. y Abraham, A.G. (2016). Selected *Lactobacillus* strains isolated from sugary and milk kefir reduce *Salmonella* infection of epithelial cells in vitro. *Beneficial Microbes*, 7(4), 585–95.
- [23] Marshall, V.M., Cole, W.M. y Brooker, B. (1984) Observations on the structure of kefir grains and the distribution of the microflora. *Journal of Applied Microbiology*, 57, 491–497
- [24] Hamet, F., Medrano, M., Pérez, F., y Abraham, G. (2016). Oral administration of kefir exerts a bifidogenic effect on BALB/c mice intestinal microbiota. *Beneficial Microbes*, 7(2), 237–246.
- [25] Rodrigues, K.L., Caputo, L.R., Carvalho, J. C., Evangelista, J. y Schneedorf, J.M. (2005). Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 25, 404–408.
- [26] Rodrigues, K.L., Carvalho, C.T. y Schneedorf, J.M. (2005). Antiinflammatory properties of kefir and its polysaccharide extract. *Inflammopharmacology*, 13(5–6), 485–492
- [27] Maeda, H., Zhu, X., Omura, K., Suzuki, S. y Kitamura, S. (2004). Effects of an exopolysaccharide (kefir) on lipids, blood pressure, blood glucose, and constipation. *Biofactors*, 22(1–4), 197–200.
- [28] Uchida, M., Ishii, I., Inoue, C., Akisato, Y., Watanabe, K., Hosoyama, S., Toida, T., Ariyoshi, N., y Kitada, M. (2010). Kefiran reduces atherosclerosis in rabbits fed a high cholesterol diet. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 17(9), 980–988.