

Estudio del efecto del kéfir sobre la microbiota intestinal de terneros jóvenes

Romero Scharpen, A.¹; Berisvil, A.P.¹; Rossler, E.¹; Zimmermann, J.A.¹; Fusari, M.L.²; Sirini, N.E.¹; Rosmini, M.R.²; Frizzo, L.S.^{1,2}

¹Laboratorio de Análisis de alimentos, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL) / Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Esperanza, Santa Fe, Argentina. ²Dpto. de Salud Pública, Facultad de Ciencias veterinarias, UNL.
analiaromeros@hotmail.com

El kéfir es un producto lácteo fermentado funcional que es producido por fermentación láctica o alcohólica de la leche. El grano de kéfir contiene una asociación simbiótica de bacterias ácido lácticas, levaduras y bacterias de ácido acético que están incrustadas en una matriz de polisacárido conocida como kefiran ⁽¹⁾. El kéfir ha demostrado poseer características probióticas *in vitro* ⁽³⁾. Estudios anteriores indicaron que alimentar a ratones con kéfir está asociado con beneficios para la salud, posiblemente debido a actividades antimicrobianas y antagónicas contra patógenos ⁽²⁾. No obstante, son incipientes los estudios sobre el efecto del consumo de kéfir en terneros neonatales. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del kéfir sobre la microbiota intestinal de terneros jóvenes. Para esto se realizó un ensayo *in vivo* en un establecimiento de la provincia de Santa Fe. Veinte terneros jóvenes machos Holstein (*Bos taurus*) con una edad < 7d de vida fueron divididos en 2 grupos de 10 animales cada uno usando un diseño completamente aleatorio balanceado por el peso vivo. Los terneros permanecieron en el ensayo durante 56 d. La crianza artificial se realizó en estaca y sobre piso cubierto por pasto natural. Los granos de kéfir fueron inoculados (5% p/v) y propagados en leche entera a temperatura ambiente en forma continua durante el ensayo. Los granos permanecieron en un contenedor *ad hoc* y la proporción de leche:grano fue reestablecida diariamente. Después de 24h de fermentación y luego de quitar el grano mediante filtración, el kéfir fue suministrado a los terneros diluido al 20% en leche. La mezcla kéfir: leche fue calentada hasta 40°C para luego ser administrada a los terneros. Todos los animales fueron alimentados con agua, concentrado comercial *ad libitum* a lo largo del experimento y leche entera y kéfir diluido (4 l/ternero/d) al grupo control (GC) y grupo tratamiento (GT), respectivamente. La leche fue suministrada a los terneros a las 8:30 h (2l/ternero) y a las 16:30 h (2l/ternero). Al día 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 del ensayo se tomaron muestras de leche y de kéfir diluido y muestras de materia fecal de todos los animales mediante masaje rectal en bolsas de nylon para determinar concentraciones de *Escherichia coli*, levaduras y bacterias ácido lácticas (BAL). Además, se midió el pH de las muestras de leche. A partir de todas las muestras obtenidas fueron realizadas diluciones decimales las cuales fueron sembradas sobre los medios TBX, Hongos y Levaduras modificado y MRS para el recuento de *E. coli*, levaduras y BAL, respectivamente. Para estudiar la relación existente entre las poblaciones administradas en la leche y las recuperadas desde la materia fecal de los terneros se utilizó un test de Correlación de Spearman. Para el análisis de los datos obtenidos a partir de las muestras semanales de leche (recuentos y pH) y los recuentos de materia fecal se utilizó el test T-Student o el test no paramétrico U-Mann Whitney. Las pruebas estadísticas se realizaron con el Programa SPSS para Windows versión 23.0. Las diferencias entre los tratamientos con $p \leq 0,05$ fueron consideradas significativas. El recuento de *E. coli* varió entre 3,15 y 6,16 y entre 3,85 y 6,42 log UFC/ml en la leche proveniente del tambo y en el kéfir, respectivamente, sin hallarse diferencias entre ellas ($p=0,084$). El recuento de BAL varió entre los 5,57 y 7,62 y entre los 6,01 y los 9,11 log UFC/ml en los terneros del GC y GT respectivamente, mientras que el recuento de levaduras varió entre 3,05 y 5,61 y 4,18 y 6,25 log UFC/ml de leche, respectivamente, determinándose que el kéfir contenía mayor número de BAL ($p=0,005$) y levaduras ($p=0,004$). El pH de la leche control fue $6,6 \pm 0,18$ y la del kéfir $5,4 \pm 0,82$ ($p < 0,001$). Los resultados de los recuentos obtenidos para las diferentes poblaciones estudiadas en la materia fecal de los terneros

de ambos grupos evidenciaron que los recuentos de *E. coli* ($p=0,489$), BAL ($p=0,640$) y levaduras ($p=0,387$) fueron similares entre ambos grupos. Al realizar el análisis de correlación como medida de la intensidad de la relación lineal entre la cantidad de cada microorganismo en la leche ingerida y la hallada en la materia fecal, se obtuvieron los resultados resumidos en la tabla 1. Cuanto mayor era la concentración de *E. coli* y BAL en la leche mayor era la concentración en materia fecal, aunque la correlación fue baja. No fue encontrada una relación entre la concentración de levaduras en la leche y en la materia fecal de los terneros. Por otra parte cuanto mayor era la concentración de BAL y levaduras en el kéfir menor era la concentración hallada en materia fecal de terneros del grupo tratamiento aunque la correlación fue baja. No fue encontrada una relación entre la concentración de *E. coli* en el kéfir y en la materia fecal.

	Población en leche	Población en materia fecal	Coefficiente de correlación (r)	P	Correlación
Grupo control	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	0,29	0,006	Directa y baja
	BAL	BAL	0,308	0,003	Directa y baja
	Levaduras	Levaduras	-0,174	0,101	No existe
Grupo tratamiento	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	-0,109	0,325	No existe
	BAL	BAL	-0,296	0,007	Inversa y baja
	Levaduras	Levaduras	-0,326	0,003	Inversa y baja

Tabla 1. Resultados de correlación entre las cantidades de microorganismos en leche y kéfir y las halladas en materia fecal de terneros.

De esta manera se puede concluir que, en estas condiciones, la cantidad de los microorganismos estudiados administrada con el kéfir tuvo un efecto mínimo o nulo sobre la concentración de las mismas poblaciones en la materia fecal de los terneros. Las cantidades de microorganismos suministradas con la dieta fue variable a lo largo del tiempo. Evidentemente, la variación de temperatura ambiental tuvo un fuerte efecto sobre el crecimiento de los microorganismos durante la fermentación y a lo largo de los 56 días de ensayo. Además, es importante destacar las altas concentraciones de *E. coli* en la leche proveniente del tambo. Aunque la cantidad de microorganismos suministrados en la dieta fueron diferentes para cada grupo experimental esa carga no fue suficiente para modificar la microbiota intestinal de los terneros jóvenes. Por ello, se plantea la necesidad de repetir el estudio tratando de fijar las condiciones óptimas de fermentación y aumentando la proporción de kéfir a la dieta de los terneros.

Bibliografía

- 1- Garrote, G., Abraham, A., y De Antoni, G. (2010). Microbial Interactions in Kefir: A Natural Probiotic Drink. In: Biotechnology of Lactic Acid Bacteria. Editores Mozzi, F., Raya, R., & Vignolo, M. 327-340 de 393. ISBN 978-0-8138-1583-1 Blackwell Publishing Ames USA.
- 2- Likotrafiti, E., P. Valavani, A. Argiriou, and J. Rhoades. (2015). In vitro evaluation of potential antimicrobial synbiotics using Lactobacillus kefir isolated from kefir grains. International Dairy Journal. 45:23–30.
- 3- Santos, A., San Mauro, M., Sanchez, A., Torres, J. M., & Marquina, D. (2003). The antimicrobial properties of different strains of lactobacillus spp. isolated from kefir. Systematic and Applied Microbiology, 26(3), 434-437.