



FACULTAD DE FARMACIA
ESCUELA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA

Kéfir y estrés académico:

**Detección de bacterias productoras de ácidos
grasos relacionados con el eje intestino-cerebro
y estudio de consumo de alimento probiótico en
estudiantes universitarios**

Autores

María Victoria González Cuneo
Carla Sofía Habash Seguí

Tesis para optar al Título Profesional de Nutricionista
Grado Académico de Licenciado en Nutrición y Dietética

Director de Tesis: Dr. Alejandro Dinamarca Tapia

Co-director de Tesis: Paulina Ibaceta González

2015

ÍNDICE

RESUMEN.....	4
MARCO TEÓRICO.....	5
1. Probióticos.....	5
2. Psicobióticos.....	6
3. Endocrinología microbiana.....	8
4. Eje microbiota-intestino-cerebro: actividad antidepresiva y ansiolítica.....	9
5. Sistema inmune y eje hipotalámico-pituitario-adrenal.....	10
6. Kéfir, un alimento probiótico funcional, potencial fuente de microorganismos psicobióticos.....	11
7. Ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) omega-3 y alteraciones psicosomáticas.....	12
8. Estrés: fisiología del estrés.....	14
9. Estrés Académico.....	15
HIPÓTESIS.....	19
OBJETIVOS GENERALES.....	19
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
METODOLOGÍA.....	20
1. DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO.....	20
2. PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DE KÉFIR Y AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS PSICOBÍOTICOS DESDE EL FERMENTADO LÁCTEO ...	20
2.1. SCREENING DE BACTERIAS PSICOBÍOTICAS: MÉTODO DE DETECCIÓN DE PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3 POR SALES DE TETRAZOLIO.....	21
3. ANÁLISIS DEL EFECTO DEL CONSUMO DE UN ALIMENTO PROBIÓTICO FUNCIONAL EN UNA POBLACIÓN DE ESTUDIANTES.....	24
3.1 DEFINICIÓN DE POBLACIÓN Y SUJETOS DE ESTUDIO.....	24
3.2 EDUCACIÓN RESPECTO DE LA ELABORACIÓN Y BENEFICIOS DEL CONSUMO DE UN ALIMENTO PROBIÓTICO DEL TIPO KÉFIR.....	25
3.3 SEGUIMIENTO DE LOS SUJETOS Y RECOLECCIÓN DE DATOS: VARIABLES A ANALIZAR.....	25
4. MEDICIÓN DE PARÁMETROS PSICOLÓGICOS EN UNA POBLACIÓN DE ESTUDIANTES SOMETIDA A ESTRÉS ACADÉMICO.....	28
5. ANÁLISIS DE DATOS.....	32

RESULTADOS.....	33
1. OBTENCIÓN DE BACTERIAS PSICOBÍOTICAS DESDE KÉFIR. RESULTADOS DE LABORATORIO: CULTIVO DE BACTERIAS Y REDUCCIÓN DE CLORURO DE TRIFENIL TETRAZOLIO A TRIFENIL FORMAZÁN	33
2. RESULTADOS ENCUESTA DE VARIABLES Y CRITERIOS DE INCLUSIÓN/EXCLUSIÓN PARA PARTICIPACIÓN EN PROYECTO DE TESIS ...	37
3. MEDICIÓN DEL NIVEL DE ESTRÉS ACADÉMICO EN ESTUDIANTES DE LA FACULTAD DE FARMACIA: APLICACIÓN DE INVENTARIO SISCO VALIDADO AL CONTEXTO BUMANGUÉS	40
4. ESTUDIO DE CASOS DE ALUMNOS CONSUMIDORES DE KÉFIR Y RESULTADOS DE INVENTARIO SISCO	47
DISCUSIÓN	58
1. AISLAMIENTO Y DETECCIÓN DE BACTERIAS PSICOBÍOTICAS DESDE KÉFIR: MEDIANTE LA TÉCNICA DE REDUCCIÓN DE CLORURO DE TRIFENIL TETRAZOLIO A TRIFENIL FORMAZÁN	58
1.1 PRODUCCIÓN BACTERIANA DE ÁCIDOS GRASOS	61
2. EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL CONSUMO DE KÉFIR EN UNA POBLACIÓN DE ESTUDIANTES SOMETIDA A ESTRÉS ACADÉMICO.....	62
2.1 VARIABLES Y NIVEL DE ESTRÉS ACADÉMICO EN ALUMNOS CONSUMIDORES DE KÉFIR.....	64
CONCLUSIONES	67
LIMITACIONES	69
BIBLIOGRAFÍA	70
ANEXOS	76

RESUMEN

La presente investigación se enmarca en un ámbito de especial interés en la actualidad, se trata de alimentos probióticos que han sido identificados como reservorio de microorganismos psicobióticos, capaces de influir en la salud del huésped mediante distintos mecanismos fisiológicos.

Con el fin de profundizar en esta área, y considerando la relevancia del tema propuesto, es que fue planteado el objetivo de determinar en un alimento probiótico funcional del tipo kéfir, la existencia de bacterias capaces de producir ácidos grasos poliinsaturados omega-3, los cuales también han sido ampliamente relacionados con la regulación de diversas alteraciones psicosomáticas. Para esto fue empleado el método de sales de tetrazolio por crecimiento a baja temperatura. Colonias bacterianas de kéfir incubadas bajo condiciones específicas arrojaron una variación colorimétrica positiva, asociada a una modificación en la expresión de ácidos grasos de membrana.

Por otra parte, se propuso establecer una relación entre el consumo de kéfir con una mejoría en los parámetros de medición del estrés académico, el cual fue evaluado utilizando el inventario SISCO del Estrés Académico validado al contexto Bumangués. Se dispuso de una muestra de 27 estudiantes universitarios de los cuales, al inicio y final de este estudio, un total de 3 y 5 sujetos refirieron consumir kéfir respectivamente, resultando en un análisis de tipo descriptivo acotado.

MARCO TEÓRICO

1. Probióticos

El término probiótico es derivado del griego que significa “para la vida” y la primera descripción formal de probiótico fue proporcionada por Metchnikoff en 1908. Los probióticos son definidos recurrentemente como un organismo vivo que cuando es ingerido en adecuadas cantidades ejerce un efecto beneficioso para la salud. Estos microorganismos una vez ingeridos, son capaces de colonizar y formar parte de la microbiota intestinal (1).

Una vez que se establecen en el intestino, particularmente en el extremo distal del intestino grueso, los probióticos juegan un papel crítico en el mantenimiento de la condición de salud al crear un equilibrio microbiano, evitando la colonización y el sobre desarrollo de microorganismos patógenos y así previenen enfermedades (2,3). De esta forma es posible comprender que los productos alimenticios que contienen probióticos entran, por lo tanto, en la categoría de "alimentos funcionales", pues entregan beneficios para la salud del consumidor, más allá de los beneficios nutricionales del alimento que los contiene (4).

Los probióticos son principalmente bacterias lácticas pertenecientes a los géneros *Lactobacillus* o *Bifidobacterium* (5).

En Chile actualmente, 11 cepas probióticas están siendo comercializadas en alimentos, principalmente en productos lácteos, y fórmulas y alimentos infantiles. Se trata de *Lactobacillus casei* CRL431, *L. acidophilus* NCFM, *L. johnsonii* NCC533 (Lal), *L. acidophilus* La5, *L.*

rhamnosus HN001 (DR20), *L. rhamnosus* GG, *L. paracasei* ST11, *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* 430, *B. animalis* spp. *lactis* DN173 010, *B. longum* BB536 y de *B. animalis* spp. *lactis* Bb12 (5)

2. **Psicobióticos**

Los psicobióticos son definidos como microorganismos vivos, capaces de actuar como vehículos de administración para compuestos neuroactivos y tienen el potencial para comportarse como agentes psicotrópicos, pudiendo ser usados como estrategia terapéutica en la prevención y/o tratamiento de ciertas condiciones neurológicas y neurofisiológicas (6,7).

Este tipo de microorganismo tiene la capacidad de producir compuestos asociados con la neurotransmisión en los mamíferos, que al ser secretados en el lumen intestinal, pueden inducir a las células epiteliales del intestino la producción y liberación de moléculas, que a su vez modulan la señalización neural dentro del sistema nervioso entérico y, por consiguiente, la función cerebral y el comportamiento del huésped (7).

Entre los principales compuestos del tipo neurotransmisores producidos y secretados por bacterias se destacan:

i) Ácido gamma-aminobutírico: (GABA): principal neurotransmisor inhibitorio en el sistema nervioso central, regulando muchos procesos fisiológicos y psicológicos. Es producido en el tracto gastrointestinal por bacterias probióticas del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* a partir del glutamato monosódico. La disfunción en el sistema GABA está implicada en ansiedad y depresión (8).

ii) Serotonina (5-HT): monoamina biógena sintetizada a partir del aminoácido esencial triptófano. Puede encontrarse en el sistema nervioso central en donde desempeña un papel

importante como neurotransmisor y en algunas estructuras periféricas como la mucosa gastrointestinal, las plaquetas, vasos sanguíneos, pulmones y el corazón. Puesto que no atraviesa la barrera hematoencefálica, existe una clara distinción entre sus funciones centrales y periféricas. En el sistema nervioso central (SNC) parece desempeñar un rol importante en la regulación de la memoria, el apetito, la ansiedad, el sueño, la depresión, sistema cardiovascular, etc. En la periferia interviene en la contracción y relajación de las células musculares lisas, en la agregación plaquetaria y en la modulación presináptica de la transmisión en las neuronas autónomas (9).

iii) Catecolaminas: Epinefrina, Norepinefrina y Dopamina, son monoaminas secretadas por la glándula adrenal. Son importantes neurotransmisores en el sistema nervioso simpático, en donde ejercen efectos metabólicos y cardiovasculares por estimulación de receptores adrenérgicos en una amplia variedad de células (10).

iv) Acetilcolina: La acetilcolina es un neurotransmisor que presenta un amplio rango de acciones en el organismo; sus acciones muscarínicas fundamentales son la actividad depresora del sistema cardiovascular y la actividad vasodilatadora en áreas vasculares periféricas. Estimula el nervio vago y el sistema nervioso parasimpático. Entre sus acciones nicotínicas más relevantes se encuentran la actividad estimulante del músculo esquelético, los ganglios autónomos y la médula adrenal (11).

3. **Endocrinología microbiana**

Lyte y Cryan han revisado el concepto de endocrinología microbiana referido al estudio de la capacidad de los microorganismos para producir moléculas químicas del tipo neuroquímicos. La microbiota intestinal es capaz de formar neuroquímicos a partir de sustratos presentes en los alimentos, responder a los componentes neuroactivos presentes en el alimento mismo, o responder a los neuroquímicos secretados en el intestino por los componentes del sistema nervioso entérico del huésped (7).

Las sustancias neuroquímicas producidas por la microbiota intestinal, tienen dos vías de acción mediante las cuales influir en su receptor:

- i) Pueden ser absorbidas desde el intestino a la circulación portal
- ii) Pueden interactuar directamente con los receptores del sistema nervioso entérico que inerva la longitud completa del tracto gastrointestinal (TGI).

El resultado de cualquiera de las dos vías en el cerebro, puede culminar en una alteración de la conducta o alteración cognitiva. De esta forma se ha podido establecer que aquellos microorganismos que forman parte del microbioma humano y que son capaces de producir neurotransmisores, pueden tener un papel importante en la salud mental y funcionamiento del sistema nervioso central (SNC).

TABLA 1 Principales neurotransmisores producidos por microorganismos psicobióticos

Microorganismo psicobiótico	Neurotransmisor
<i>Escherichia</i> <i>Bacillus</i> <i>Saccharomyces</i>	Norepinefrina
<i>Cándida</i> <i>Streptococcus</i> <i>Escherichia</i> <i>Enterococcus</i>	Serotonina
<i>Bacillus Serratia</i>	Dopamina
<i>Lactobacillus Brevis</i>	Ácido γ -aminobutírico

La **Tabla 1** indica los de microorganismos psicobióticos presentes en la microbiota intestinal y los componentes neuroactivos que son capaces de producir. Éstos intervienen en las respuestas del eje intestino-cerebro, lo que demuestra la estrecha relación entre este eje y la microbiota, y su destacado papel a nivel cognitivo (12).

4. Eje microbiota-intestino-cerebro: actividad antidepresiva y ansiolítica

El eje microbiota-intestino-cerebro se refiere a la ruta de señalización bioquímica que relaciona el TGI con el sistema nervioso, y la adecuada función del cerebro (12). Específicamente, el eje intestino-cerebro (o cerebro-intestino) es el nombre que reciben el conjunto de vías de comunicación entre estos órganos. En una conexión de tipo bidireccional, el sistema nervioso central envía información al intestino por vías

anatómicas, como el nervio vago o mediante mediadores solubles, entre ellos hormonas, neurotransmisores y citoquinas. Asimismo, cambios generados a nivel intestinal pueden modular la función central utilizando similares estrategias de comunicación (13, 14).

Evaluaciones pre clínicas en roedores sugieren que ciertos psicobióticos poseen actividad antidepresiva o ansiolítica, los efectos a nivel cognitivo pueden ser mediados por la vía del nervio vago, la espina dorsal o el sistema neuroendocrino.

Existe evidencia emergente que da cuenta de la capacidad que poseen los microorganismos psicobióticos presentes en la microbiota del intestino de alterar procesos cognitivos y emocionales, demostrando alivio en los síntomas de depresión a través del eje cerebro-intestino (12,7)

5. Sistema inmune y eje hipotalámico-pituitario-adrenal

La modulación del sistema inmunológico por el SNC está mediada por una red compleja bidireccional de señales entre el SNC, el endocrino y el inmunológico (15). El sistema neuroendocrino hace referencia al eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA), el cual desempeña un importante papel en el mantenimiento de la homeostasis del estrés. El hipotálamo controla la secreción de la hormona corticotropina (ACTH) de la hipófisis anterior, que a su vez estimula la secreción de glucocorticoides de la corteza suprarrenal (16).

Las alteraciones en la actividad del eje HPA pueden presentarse con signos y síntomas de la deficiencia o exceso de glucocorticoides (17).

Las células del sistema inmunológico son capaces de producir muchos de los mediadores producidos por el tejido nervioso. Por ejemplo, la interleucina 1 (IL-1) provoca la síntesis

de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) por el hipotálamo, induciéndose por consiguiente la síntesis de más hormonas del estrés, la desregulación del sistema inmunitario y un aumento de la actividad del eje HPA (15).

Los psicobióticos son capaces de elevar las citoquinas antiinflamatorias como la interleucina 10 (IL-10), disminuir las citoquinas pro inflamatorias y suprimir la actividad del eje HPA, lo que se traduce en una disminución de los niveles de estrés. Y a su vez, es sabido que el estrés y el eje HPA pueden influenciar la composición de la microbiota intestinal (12).

6. Kéfir, un alimento probiótico funcional, potencial fuente de microorganismos psicobióticos

El kéfir es un alimento lácteo fermentado que está formado por un consorcio de microorganismos del tipo bacteria ácido lácticas (BAL), bacterias ácido acéticas y levaduras (18), combinados con aminoácidos, azúcares hidrolizados y diferentes tipos de ácidos grasos en una matriz de polisacáridos (19). El principal polisacárido es el kefirán, que comprende cantidades iguales de glucosa y galactosa (20).

Los gránulos de kéfir son pequeños, duros, de forma irregular, de color blanco amarillento que varían en diámetro de 3 a 35 mm, con la apariencia de coliflores en miniatura (19).

La composición del kéfir varía según diferentes factores como el tipo de leche, la composición microbiológica de los gránulos de kéfir y su cultivo (21). Además ciertos factores influyen en el grado de acidificación durante la producción, tales como el tamaño del grano de la inoculación, la agitación y la temperatura de incubación (22).

Los principales productos formados durante la fermentación son ácido láctico, dióxido de carbono (CO₂) y alcohol (23). El L-ácido láctico es el ácido orgánico más abundante después de la fermentación y se deriva de aproximadamente el 25% de la lactosa original en la leche. Las cantidades de etanol y CO₂ producido durante la fermentación de kéfir dependen de las condiciones de producción (18). En lo que se refiere al contenido mineral, kéfir es una buena fuente de calcio, magnesio y fósforo (23). Por otra parte, la actividad enzimática de los microorganismos en el kéfir produce vitaminas, aminoácidos esenciales y la hidrólisis de lactosa y ácidos grasos (21-23).

Durante la fermentación de la leche en la elaboración de kéfir las proteínas existentes en la leche se degradan a unidades de aminoácidos facilitando la digestión y absorción (23) en el humano, a la vez que se producen cambios en el perfil de aminoácidos que dan lugar a un aumento en los niveles de treonina, serina, alanina, lisina y amoníaco (23, 24) y la aparición de otros aminoácidos, tales como valina, isoleucina, metionina, fenilalanina y triptófano (25, 23). Este último es de gran interés dado que es de importancia clave en el sistema nervioso, al ser precursor de serotonina (12).

7. Ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) omega-3 y alteraciones psicósomáticas

Los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 son componentes dietarios esenciales para la formación y el adecuado funcionamiento del cerebro humano (26). La ingesta deficiente de ellos, produce diversas disfunciones en la neurotransmisión, lo que puede ser una de las causas de diversos trastornos psiquiátricos (27).

Éstos participan en múltiples procesos fisiológicos, donde cumplen un rol estructural en los fosfolípidos de las membranas celulares y son sustratos para la síntesis de diversos mediadores fisiológicos.

El primer exponente de los ácidos grasos omega-3 es el ácido α -linolénico, el cual se puede transformar en ácido eicosapentaenoico (EPA) y posteriormente en ácido docosahexaenoico (DHA) (28). Aunque el ácido α -linolénico se puede convertir en sus metabolitos de longitud de cadena más larga, la tasa de conversión en los seres humanos es muy baja, resultando en un estimado de 2 a 10% de α -linolénico que puede ser convertido a DHA o EPA (29).

La evidencia más convincente para los efectos beneficiosos de los AGPI omega-3 se encuentra en los trastornos del estado de ánimo. (29).

Sus efectos sobre la dinámica de la membrana neuronal y por lo tanto sobre el receptor, transportador y función de neurotransmisor, es profunda. Si no están disponibles, ellos serán reemplazados por ácidos grasos no esenciales, cambiando el comportamiento de moléculas fosfolipídicas, afectando las estructuras terciarias y cuaternarias de membrana unidas a receptor y asociadas a neurotransmisores. (30)

La deficiencia de AGPI ω 3 se asocia con un aumento de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) y contribuye a la hiperactividad del eje HPA (31). Además, son capaces de antagonizar la acción de efecto proinflamatorio de la Prostaglandina E2 (PGE2), la cual es convertida a partir del ácido araquidónico (AA) y se relaciona con el desarrollo de la depresión a través de sus acciones en la inmunomodulación (26). El AA ω 6 es el principal sustrato para PGE2, y se sabe que el tratamiento con EPA puede competir con

AA, reduciendo así la síntesis de dicha prostaglandina. Estudios indicaron que los ácidos grasos $\omega 3$ disminuyen los niveles de citoquinas proinflamatorias, y mejoran el de IL-10, una citoquina antiinflamatoria (26).

Por otra parte, los ácidos grasos esenciales son precursores de eicosanoides, los cuales realizan numerosas funciones de regulación en el cerebro y a lo largo del resto del cuerpo, en particular de la regulación de las respuestas inmunes e inflamatorias. (30)

La síntesis de AGPI $\omega 3$ por bacterias dependería no solo del microorganismo sino también de las condiciones ambientales en las que se desarrollan. No obstante, la producción bajo condiciones de crecimiento controladas permite obtener productos consistentes y reproducibles. Se ha sugerido que la síntesis de AGPI es una consecuencia de la adaptación necesaria para contrarrestar el efecto de las adversas condiciones ambientales sobre la fluidez de la membrana (32).

8. Estrés: fisiología del estrés

Clásicamente el estrés se define como una amenaza a la homeostasis, frente a la cual el organismo, para sobrevivir, reacciona con un gran número de respuestas adaptativas que implican la activación del sistema nervioso simpático (SNS) y el eje HPA (29), y una supresión en el sistema inmune, las cuales pueden resultar en el desarrollo de enfermedades psicosomáticas (33).

La activación del sistema nervioso autónomo ocurre cuando un estresor es percibido, los órganos que son estimulados por tejidos nerviosos reciben un exceso de hormonas de estrés; estas hormonas estimulan la función del órgano e incrementan su tasa metabólica;

cuando los órganos no tienen la oportunidad de relajarse, podrían iniciar las disfunciones.

(34)

La activación del eje HPA con liberación de la hormona corticotrópica (ACTH), estimula las glándulas adrenales y libera una enorme cantidad de hormonas sobre todo catecolaminas (adrenalina) y glucocorticoides como el cortisol (34). Esta reacción al estrés está modulada en su intensidad y su duración por el feedback de los glucocorticoides al nivel del hipocampo. Siendo las neuronas hipocámpicas muy sensibles al exceso o a la insuficiencia de glucocorticoides, la variación de la eficacia de este sistema de freno debería dar cuenta de las diferencias individuales de reactividad al estrés. La reciprocidad de las interacciones entre el sistema inmunitario y el SNC, a través de la combinación citoquinas- glucocorticoides, constituye otro elemento regulador cuyo funcionamiento alterado puede dar origen a patologías como las enfermedades autoinmunes (27).

El estrés aumenta la vulnerabilidad a infecciones, enfermedades autoinmunes y gastrointestinales, síndrome de fatiga crónica, enfermedades crónicas como la diabetes, o diversas alteraciones cognitivas (34).

9. **Estrés Académico**

La incorporación a la universidad constituye una experiencia estresante que implica afrontar cambios importantes en la forma de enfocar el aprendizaje y el estudio, y en muchos casos, también en la esfera personal. Factores que podrían aumentar el riesgo de que los estudiantes de nuevo acceso a la universidad generen sintomatología clínica (35,36).

El término estrés académico ha sido definido por diversos autores. En palabras de Barraza (2005) “es aquel que padecen los alumnos de educación media superior y superior y que tiene como fuente exclusiva a Estresores relacionados con las actividades que van a desarrollar en el ámbito escolar”.

Por su parte el investigador García Muñoz (2004) considera que “El estrés académico propiamente dicho apuntaría a aquellos procesos cognitivos y afectivos por lo que el estudiante experimenta el impacto de los Estresores académicos. Sería, pues, la percepción subjetiva del estrés”.

Por último, la definición acuñada por Barraza en el año 2006 es la más completa y considera al mismo como: “un proceso sistémico, de carácter adaptativo y esencialmente psicológico, que se presenta:

- i. Cuando el alumno se ve sometido, en contextos escolares, a una serie de demandas que, bajo la valoración del propio alumno son considerados Estresores (input):
- ii. Cuando estos Estresores provocan un desequilibrio sistémico (situación estresante) que se manifiesta en una serie de síntomas (indicadores de desequilibrio); y
- iii. Cuando este desequilibrio obliga al alumno a realizar acciones de afrontamiento (output) para restaurar el equilibrio sistémico” (37).

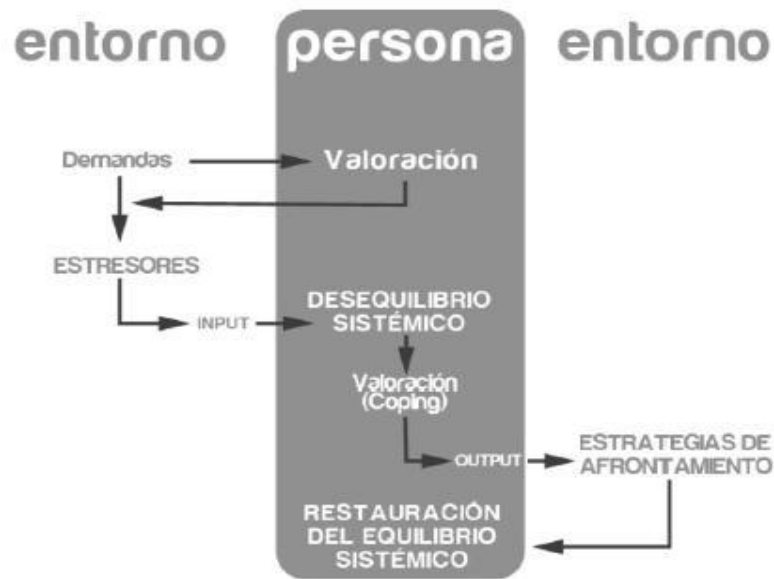


Figura 1: Representación del modelo sistémico cognoscitivista para el estudio del estrés académico (37).

La lectura del modelo gráfico inicia del lado izquierdo superior y tiene la siguiente lógica de exposición: el entorno plantea al individuo una serie de demandas o exigencias. La persona somete estas demandas a un proceso de valoración. Si considera que las demandas desbordan sus recursos las valora como estresores.

Dichos estresores se constituyen en el input que entra al sistema y provoca un desequilibrio sistémico en la relación persona- entorno. Ese desequilibrio da paso a un segundo proceso de valoración de la capacidad de afrontar la situación estresante, determinando la mejor forma de enfrentarla. El sistema responde con estrategias de afrontamiento (output) a las demandas del entorno. Una vez aplicadas estas estrategias de afrontamiento, en caso de ser exitosas, el sistema recupera su equilibrio sistémico; si no lo

son, el sistema realiza un tercer proceso de valoración que lo conduce a un ajuste de las estrategias para lograr el éxito esperado (37).

Teniendo en cuenta los múltiples beneficios que se han atribuido a lo largo del tiempo al consumo de kéfir, gracias a sus destacadas cualidades como fuente de microorganismos psicobióticos, capaces de modular el sistema inmune y nervioso; y considerando además la posible producción de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 por parte de sus bacterias, los cuales tienen un papel importante en la respuesta inflamatoria al estrés, es que resulta en un hecho de gran interés el consumo de este fermentado lácteo. Debido a esto, se decidió realizar el presente estudio, con el fin de ahondar aún más en el tema propuesto, en la relación kéfir-estrés, y producción de ácidos grasos omega-3.

HIPÓTESIS

El consumo de kéfir conteniendo bacterias capaces de producir ácidos grasos del tipo poliinsaturados omega-3, puede asociarse con una mejoría en las respuestas emocionales, conductuales y/o sintomáticas producidas por el estrés académico.

OBJETIVOS GENERALES

- Determinar en el kéfir la existencia de microorganismos productores de ácidos grasos poliinsaturados omega-3.
- Establecer una relación entre el consumo de kéfir con una mejoría en los parámetros de medición del estrés académico en una población de estudiantes universitarios.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la respuesta adaptativa de las bacterias de kéfir al ser expuestas a distintas temperaturas.
- Relacionar teóricamente la adaptación de las bacterias bajo condiciones específicas con la capacidad de éstas de producir ácidos grasos poliinsaturados omega 3.
- Describir y estudiar la respuesta al estrés académico de una población de estudiantes universitarios.

METODOLOGÍA

1. DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

El presente trabajo se divide en dos partes. En primer lugar corresponde a un estudio de tipo experimental, utilizando material biológico proveniente de un alimento del tipo fermentado lácteo. A su vez se realizó un estudio observacional de tipo descriptivo orientado a un grupo de estudiantes que cursan primer año de la carrera de Nutrición y Dietética de la Universidad de Valparaíso.

2. PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DE KÉFIR Y AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS PSICOBÍOTICOS DESDE EL FERMENTADO LÁCTEO

Para el aislamiento de los microorganismos, se utilizó kéfir de gránulo pequeño perteneciente al Laboratorio de Biotecnología Microbiana de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valparaíso. Para elaborar el fermentado lácteo, se colocó los gránulos de kéfir en un recipiente de vidrio transparente, al cual se agregó 50 ml de leche 26% materia grasa como fuente de nutrientes. Una vez juntos los gránulos con la leche, se tapó el recipiente con papel alusa, el cual tenía pequeños orificios para conservar la entrada y salida de aire, con el fin de mantener vivos los gránulos. Este recipiente de vidrio se mantuvo a temperatura ambiente durante 48 horas, período tras el cual se obtuvo el fermentado de kéfir. Para separar el fermentado de los gránulos, se dispuso el contenido del recipiente en un colador, tras lo cual, los gránulos de kéfir fueron ubicados en otro recipiente con leche para producir más fermentado. Para disminuir el riesgo de

contaminación microbiológica, es que todos estos procesos se realizaron en recipientes esterilizados por autoclave y bajo el área del mechero.

Los microorganismos se aislaron en medio de cultivo sólido de Agar Nutritivo para el crecimiento de bacterias heterótrofas viables con incubación a 37°C. Se esperaba obtener colonias puras para la etapa de screening de detección de microorganismos psicobióticos.

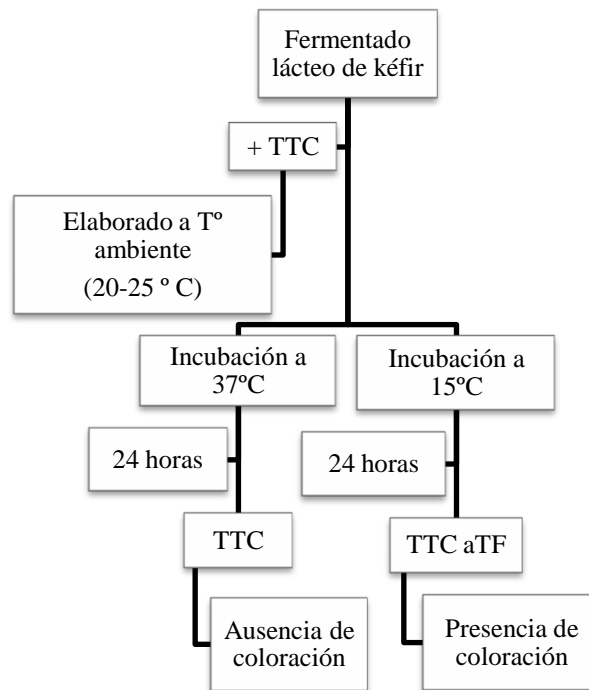
2.1. SCREENING DE BACTERIAS PSICOBÍOTICAS: MÉTODO DE DETECCIÓN DE PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3 POR SALES DE TETRAZOLIO

Para determinar la existencia de microorganismos productores de ácidos grasos del tipo omega-3 en kéfir, se utilizó el método de sales de tetrazolio por crecimiento a baja temperatura (15°C) (38). Para esto se sembró el fermentado lácteo de kéfir en tres diluciones (D0, D1, D2) en nueve placas petri conteniendo un medio de cultivo Agar Leche con cloruro de trifenil tetrazolio al 0,1% (TTC). El objetivo de agregar el cloruro de tetrazolio al medio de cultivo, fue el de observar un posible cambio en la coloración de las colonias bacterianas, desde un rosa claro hasta rojo intenso a baja temperatura (15°C), lo que indica la reducción de TTC a TF. Tres de las placas fueron sembradas con una dilución D0, es decir, que fueron sembrados 100 ul directamente del fermentado lácteo de kéfir. Otras tres placas con dilución D1; esta dilución se preparó mezclando 900 ul de cloruro de sodio al 0,85% con 100 ul de fermentado lácteo de kéfir; una vez juntos ambos elementos se mezclaron en agitador vórtex aproximadamente por 10 segundos y de allí se extrajeron 100 ul de muestra. Las otras tres placas contenían una dilución D2, la cual se obtuvo tras mezclar en agitador vórtex 900 ul de cloruro de sodio al 0,85% más 100 ul de D1; de ésta mezcla se sustrajeron 100 ul de D2. Tras ser sembradas con las distintas diluciones, tres de

las placas fueron colocadas en estufa a 37°C. (D0, D1 y D2), otras tres fueron ubicadas en refrigerador a 15°C (D0, D1 y D2), y las últimas tres placas fueron ubicadas a 37° C (D0, D1 y D2), y tras un período de 16 horas fueron trasladadas a refrigerador a 15° C.

Al cabo de los respectivos tiempos de incubación se registró el cambio de color a un rojo pálido o fuerte producto de la formación de formazán (TF).

ESQUEMA 1: FORMACIÓN DE TF A PARTIR DE TTC

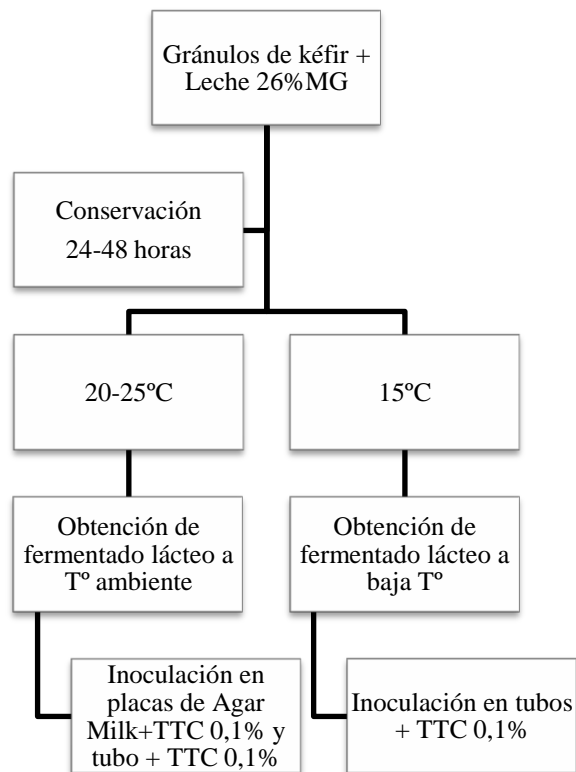


Posterior al trabajo realizado exponiendo las placas a diferentes temperaturas, se llevó a cabo el proceso de picado de bacterias a partir de las placas de Agar Leche más TTC ya sembradas con fermentado lácteo de kéfir. Se seleccionaron tres colonias de cada placa, lo que otorgó un total de 27 colonias picadas y resembradas en una nueva placa de Agar Leche con TTC al 0,1%. Esta placa fue ubicada en estufa a 37° C por 24 horas, período tras el cual se ubicó en refrigerador a 15° C. Lo que se esperaba al realizar este nuevo sembrado,

era observar a partir de colonias aisladas los cambios generados por la variación de temperatura, en la capacidad o incapacidad de las bacterias de kéfir de reducir TTC a TF, a baja temperatura (15° C).

Finalmente, a modo de corroborar el cambio en la expresión de ácidos grasos al exponer las colonias bacterianas a una baja temperatura, es que se elaboró kéfir en refrigerador a 15°C. El proceso de fermentación tuvo una duración de 48 horas, período tras el cual se extrajo 2500 ul de fermentado lácteo. Este se mezcló con 100 ul de agua destilada y se agregó TTC al 0,1%. Adicionalmente, se realizó el mismo procedimiento con una muestra de kéfir elaborado a temperatura ambiente que tuvo una fermentación de 48 horas.

ESQUEMA 2: PROCESO DE ELABORACIÓN DE FERMENTADO LÁCTEO DE KÉFIR A DISTINTAS TEMPERATURAS



3. ANÁLISIS DEL EFECTO DEL CONSUMO DE UN ALIMENTO PROBIÓTICO FUNCIONAL EN UNA POBLACIÓN DE ESTUDIANTES

3.1 DEFINICIÓN DE POBLACIÓN Y SUJETOS DE ESTUDIO

Estudiantes entre 18 y 30 años que cursan primer año de la carrera de Nutrición y Dietética en la Universidad de Valparaíso, V Región.

Para el estudio se seleccionó una muestra dirigida por conveniencia con un total de 33 estudiantes. Los mismos son alumnos regulares de la Universidad de Valparaíso, Facultad de Química y Farmacia, que se encontraban en primer año en el período correspondiente a septiembre-diciembre de 2015.

Criterios de inclusión:

- Edad: 18-30 años
- Cursar 1º año de la carrera de Nutrición y Dietética de la Universidad de Valparaíso.

Criterios de exclusión:

- Sujetos con diagnóstico actual de alguna patología gastrointestinal, tales como Síndrome de Intestino Irritable, Colitis Ulcerosa o Enfermedad de Crohn.
- Sujetos con resección de alguna porción intestinal.
- Sujetos que hayan sido sometidos a cirugía bariátrica.
- Sujetos con tratamiento farmacológico que altere la microbiota intestinal y el correcto funcionamiento del TGI (antiácidos, laxantes, antibióticos).
- Mujeres en período gestacional o de lactancia.
- Sujetos que sigan dietas restrictivas (vegetarianos, veganos, entre otros).

3.2 EDUCACIÓN RESPECTO DE LA ELABORACIÓN Y BENEFICIOS DEL CONSUMO DE UN ALIMENTO PROBIÓTICO DEL TIPO KÉFIR

La población de estudio asistió a una intervención educativa respecto de un alimento probiótico funcional casero del tipo kéfir, con el fin de otorgar una información completa y detallada de los beneficios de su consumo, correcta técnica de manipulación de los gránulos y producción de fermentado lácteo, la cual fue realizada durante un periodo de clases en la Facultad de Farmacia de la Universidad.

Además, se respaldó la información haciendo entrega de una versión modificada de la “Guía alimentaria de elaboración y seguridad microbiológica del kéfir” (39) en formato impreso.

El objetivo de dicha intervención fue netamente educativo, por lo tanto, no se estableció una cantidad ni frecuencia de kéfir a consumir, tampoco se dividió a los alumnos en grupo consumidor y no consumidor.

3.3 SEGUIMIENTO DE LOS SUJETOS Y RECOLECCIÓN DE DATOS: VARIABLES A ANALIZAR

Se aplicaron dos encuestas; una diseñada con el fin de recabar antecedentes de los sujetos respecto a distintas variables y a criterios de inclusión y exclusión; y la segunda, orientada a obtener información de los alumnos que se encontraran consumiendo kéfir, respecto a la cantidad ingerida y frecuencia.

La primera encuesta fue aplicada durante el segundo semestre académico de la Universidad y se constituyó de diez preguntas. Al cabo de cuatro semanas, se realizó la segunda

encuesta la cual se constituyó de un total de cuatro preguntas con sus posibles respuestas respecto del consumo de kéfir durante el tiempo de estudio.

Ésta permitió dividir a los sujetos en un grupo de consumidores y otro de no consumidores, además de diferenciarlos por tiempo de consumo, frecuencia y cantidad, para luego incluir estos datos en los resultados. Para la aplicación de estas encuestas se asistió en periodo de clases de los alumnos en la Facultad de Farmacia de la Universidad los días que fueron estipulados.

Las variables que se obtuvieron para ser incluidas en este estudio fueron: edad, género, embarazo o lactancia, patología digestiva, estado patológico crónico, terapia farmacológica, seguimiento de dieta restrictiva, consumo de kéfir, consumo de alimento probiótico y/o suplemento de omega-3, y dieta saludable y variada.

Además se obtuvieron las siguientes variables en el grupo consumidor de kéfir: tiempo de consumo (menor a 1 semana hasta mayor a 6 semanas), frecuencia de consumo (menos de una vez a la semana hasta 2 o más veces al día) y cantidad consumida.

Variables encuesta para participación en proyecto de tesis: consumo de kéfir

Variable	Clasificación	Categorías
Consumo de kéfir	Cualitativa, nominal, dicotómica	<ul style="list-style-type: none"> • Si • No
Tiempo de consumo	Cuantitativa, discreta	<ul style="list-style-type: none"> • Menos de 1 semana • Entre 1 y 2 semanas • Entre 2 y 3 semanas • Entre 3 y 4 semanas • Más de 4 semanas
Frecuencia de consumo	Cuantitativa, discreta	<ul style="list-style-type: none"> • 2 o más veces al día • 1 vez al día • De 4 a 6 veces por semana • De 2 a 3 veces por semana • 1 vez por semana • Menos de 1 vez por semana
Cantidad consumida	Cuantitativa, continua	<ul style="list-style-type: none"> • Una taza (200cc) • Media taza (100cc) • Más de una taza ¿cuánto? • Menos de una taza ¿cuánto?

4. MEDICIÓN DE PARÁMETROS PSICOLÓGICOS EN UNA POBLACIÓN DE ESTUDIANTES SOMETIDA A ESTRÉS ACADÉMICO

Teniendo en cuenta que la incorporación a la Universidad constituye una experiencia estresante que implica afrontar cambios importantes, es que se determinó realizar el estudio en alumnos que ingresaron a la carrera de Nutrición y Dietética durante el presente año.

Para evaluar el nivel de estrés presentado en los estudiantes, se utilizó el Inventario SISCO del Estrés Académico, validado al contexto Bumangués (40), el cual está destinado a conocer las características del estrés que suelen acompañar a los estudiantes de educación media superior, superior y de postgrados durante sus estudios, y tiene el objetivo de medir el nivel de estrés académico. El test validado al contexto Bumangués presenta una confiabilidad por mitades de 0,804 y una confiabilidad alfa de Cronbach de 0,861, es decir, que los niveles de confiabilidad pueden ser valorados como buenos.

El inventario fue administrado de forma colectiva en las aulas donde los alumnos reciben sus clases, y el tiempo utilizado por los estudiantes para responder el test en su totalidad fluctuó entre 10 y 15 minutos. Éste fue respondido al inicio y al final del estudio por los alumnos, tanto por los que consumieron kéfir como por los que no lo hicieron, e independiente de las variables obtenidas.

Este inventario es autodescriptivo y se le puede definir como un autoinforme que proporciona un sujeto sobre sí mismo o sobre distintos aspectos de su funcionamiento, basándose en su auto-observación (41).

El cuestionario utilizado se diseñó a partir de las variables de estudio relacionadas con el estrés: Estrés Autopercebido, Estresores, Síntomas y Estrategias de Afrontamiento.

De cada variable se derivan los ítems, por lo que el instrumento se compone de cuatro apartados con un total de 37 ítems, con preguntas de tipo cerrada simple y cerradas con múltiples respuestas, los cuales están distribuidos de la siguiente manera:

Un ítem de filtro que en términos dicotómicos (si-no), permite determinar si el encuestado se ha sentido sometido a situaciones de preocupación o angustia. Si la respuesta a esta pregunta es “no”, se da por terminado el inventario.

Diez ítems que en un escalamiento tipo Likert, de cinco valores categoriales (nunca, rara vez, algunas veces, casi siempre y siempre), permiten identificar la frecuencia en que las demandas del entorno son valoradas como estímulos estresores.

Dieciocho ítems que en un escalamiento tipo Likert, de cinco valores categoriales (nunca, rara vez, algunas veces, casi siempre y siempre), permiten identificar la frecuencia con que se presentan los síntomas o reacciones al estímulo estresor.

Ocho ítems que en un escalamiento tipo Likert, de cinco valores categoriales (nunca, rara vez, algunas veces, casi siempre y siempre), permiten identificar la frecuencia de uso de las estrategias de afrontamiento.

Teniendo en cuenta que (1) es poco y (5) mucho y donde 1 es NUNCA, 2 es RARA VEZ, 3 ALGUNAS VECES, 4 CASI SIEMPRE y 5 SIEMPRE, se sumó el puntaje adquirido por ítems y también por la totalidad del test, lo que permitió clasificar el nivel de estrés por dimensiones (estresores, síntomas y estrategias de afrontamiento), y por puntaje total.

Indicador	Nunca	Rara vez	Algunas veces	Casi siempre	Siempre
Valor	1 punto	2 puntos	3 puntos	4 puntos	5 puntos

A continuación se presentan los baremos de calificación para el Inventario en su totalidad y para cada una de las dimensiones. Estos baremos se diseñaron acorde a la aplicación final del cuestionario, ya que la escala original no contaba con ello (Barraza, 2006). La forma de calificación del Inventario es de orden sumativo, ya que es una escala Likert.

Puntuación Total:

Clasificación	Puntuación Directa
BAJO	0-79
MEDIO BAJO	80-87
MEDIO	88
MEDIO ALTO	89-97
ALTO	98-180

Dimensión Estresores:

Clasificación	Puntuación Directa
BAJO	0-23
MEDIO BAJO	23-25
MEDIO	26
MEDIO ALTO	27-28
ALTO	29-50

Dimensión Síntomas:

Clasificación	Puntuación Directa
BAJO	0-33
MEDIO BAJO	34-38
MEDIO	39
MEDIO ALTO	40-44
ALTO	45-90

Dimensión Estrategias de Afrontamiento:

Clasificación	Puntuación Directa
BAJO	0-16
MEDIO BAJO	17-18
MEDIO	19
MEDIO ALTO	20-21
ALTO	22-40

5. ANÁLISIS DE DATOS

El tipo de estadística utilizada en el presente estudio fue de carácter descriptivo.

Los resultados obtenidos correspondieron a variables del tipo cuantitativas y cualitativas, las cuales fueron ordenadas y expresadas mediante distintas representaciones gráficas. Además se obtuvieron medidas de tendencia central tales como media y moda para distintas variables.

La distribución de los resultados de las variables seleccionadas de encuesta inicial fue expresada en porcentajes y representada a través de gráficos.

Los datos correspondientes al nivel de estrés académico fueron organizados en tablas comparativas para cada dimensión del inventario SISCO, evidenciando los resultados obtenidos para ambos tiempos de medición.

Tanto la tabulación como el análisis de los datos fueron realizados utilizando el programa computacional Microsoft Office Excel 2013.

RESULTADOS

1. OBTENCIÓN DE BACTERIAS PSICOBÍOTICAS DESDE KÉFIR. RESULTADOS DE LABORATORIO: CULTIVO DE BACTERIAS Y REDUCCIÓN DE CLORURO DE TRIFENIL TETRAZOLIO A TRIFENIL FORMAZÁN

Posterior a la siembra de fermentado lácteo de kéfir en las distintas diluciones, y de ser incubadas por 96 horas a las temperaturas propuestas, se logró observar un resultado evidente en relación a la cantidad de bacterias viables en las placas sembradas y coloración positiva de éstas.

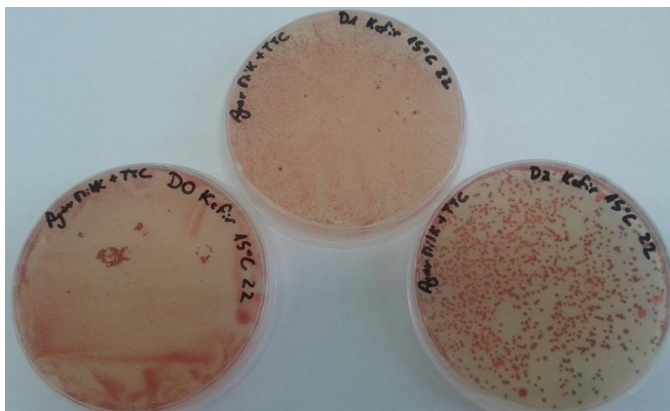


Figura 1. Placas incubadas a 15°C (D0, D1, D2). Coloración positiva en colonias bacterianas

(Fig.1)

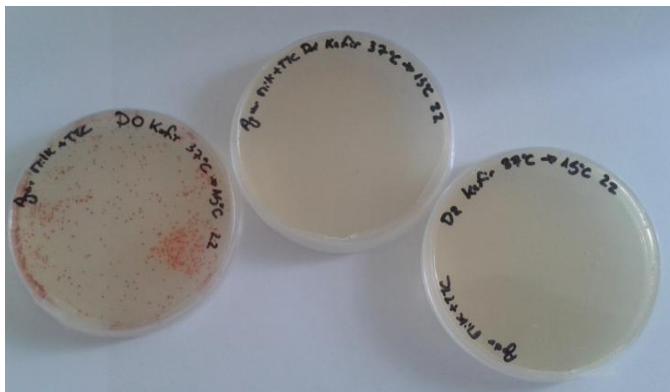


Figura 2. Placas incubadas a 37°C, trasladadas luego a 15°C (D0, D1, D2). Coloración positiva en colonias bacterianas de D0 y D1

(Fig. 2)

El hallazgo más atrayente obtenido a partir de dichos resultados, fue que las placas que mostraron mayor desarrollo y potentes cambios en la coloración, correspondieron a las que estuvieron a una temperatura de 15°C, seguidas de dos placas que de manera inicial estuvieron expuestas a 37°C, las cuales no habían presentado cambios en la coloración hasta que fueron trasladadas a 15°C. Es importante destacar que de las placas que inicialmente fueron expuestas a 37°C, la que presentó una mayor cantidad de colonias reductoras de TTC, fue la que contenía una dilución D0, mientras que la placa con dilución D1 presentó el crecimiento de dos colonias capaces de reducir TTC y demostrar cambios en su coloración.

Las placas incubadas a 37°C al cabo de 24 horas presentaban un difuso crecimiento bacteriano sin coloración, y luego de 96 horas mantuvieron similares características.

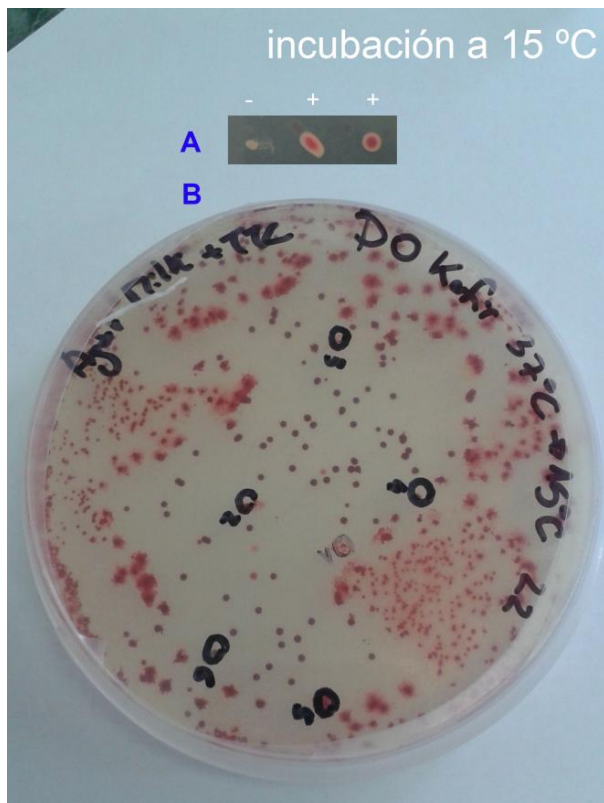


Figura 3. Variación colorimétrica en colonias bacterianas de kéfir.

(A) Colonias bacterianas de kéfir incubadas a 15°C. Se observa una colonia bacteriana incapaz de reaccionar para la prueba de TTC a baja temperatura, y dos colonias que reaccionaron colorimétricamente a la misma prueba.

(B) Placa de Agar Leche conteniendo colonias bacterianas de kéfir incubadas a 15°C luego de permanecer a 37°C. Se observa variación colorimétrica positiva en la mayoría de colonias viables.

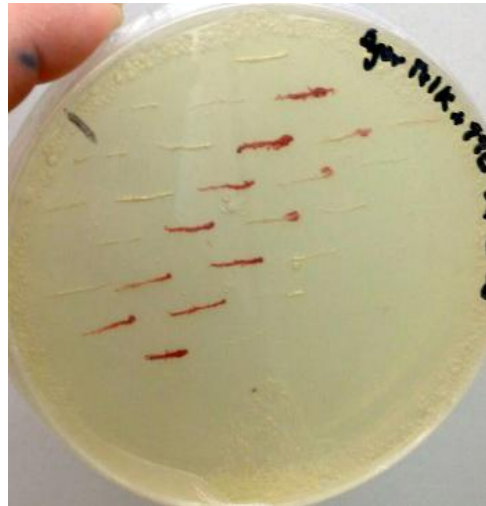
Luego de seleccionar tres colonias de cada una de las nueve placas sembradas con distintas diluciones de fermentado lácteo y ser resembradas en una nueva placa, se observó que tras 24 horas de permanecer a 37°C no se evidenció ningún cambio de coloración en las colonias picadas; sin embargo, una vez trasladadas a baja temperatura y de permanecer por 48 horas a 15°C, se pudo observar cambios patentes e indiscutibles en relación a la tinción e intensidad de ésta en algunas colonias. Las colonias aisladas que reflejaron cambios en su coloración fueron (de izquierda a derecha Figura. 4).

Tercera fila:

- D1 a 15°C
- D1 a 15°C
- D1 a 15°C
- D0 a 15°C
- D0 a 15°C
- D0 a 15°C

Cuarta fila:

- D0 de 37-15°C
- D0 de 37-15°C
- D0 de 37-15°C
- D2 a 15°C
- D2 a 15°C
- D2 a 15°C



(Fig. 4)

Respecto de la elaboración de fermentado lácteo de kéfir a distintas temperaturas, se pudo observar un cambio de coloración en el fermentado de kéfir que se mantuvo a 15°C durante proceso de elaboración, en contraste con una ausencia de reacción a la prueba de TTC en el fermentado de kéfir elaborado a temperatura ambiente (Figura. 5).

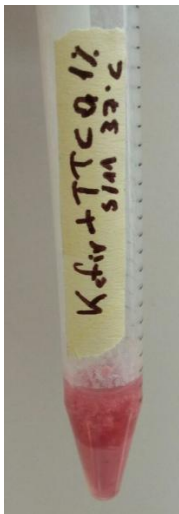


(Fig. 5)

Figura 5.

(A) Fermentado lácteo de kéfir elaborado a 15°C + TTC al 0,1% (P/V). Presentó coloración rojiza tenue en un tiempo de 60 minutos a T° ambiente.

(B) Fermentado lácteo de kéfir elaborado a temperatura ambiente (20-25°C) + TTC al 0,1% (P/V). Ausencia en variación colorimétrica tras ser expuesto a T° ambiente.



(Fig. 6)

Figura 6. Adicional a esto, se preparó una mezcla de fermentado lácteo de kéfir elaborado a 15°C + TTC al 0,1% (P/V), y fue incubado en estufa a 37°C. Luego de 2 horas la variación colorimétrica fue evidente, y al cabo de 24 horas el color rojo se intensificó.

2. RESULTADOS ENCUESTA DE VARIABLES Y CRITERIOS DE INCLUSIÓN/EXCLUSIÓN PARA PARTICIPACIÓN EN PROYECTO DE TESIS

Se aplicó a los alumnos una encuesta de carácter inicial para determinar el cumplimiento de criterios de inclusión y con el fin de determinar distintas variables.

El total de alumnos encuestados fue de 33, lo que equivale a un 70% del total de alumnos del curso (47 alumnos).

Las edades de los estudiantes encuestados oscilaron entre los 18 y 29 años de edad, con una moda de 18 años y una media de 19 años. El grupo etario más prevalente correspondió al de 18 años con un puntaje de 36,2% del total de los sujetos de estudio.

De acuerdo a la distribución por género, se observa que el sexo femenino representa un 97%, mientras que el sexo masculino es equivalente sólo a un 3% (1 alumno) de la población, por lo tanto la distribución de esta variable no fue uniforme.

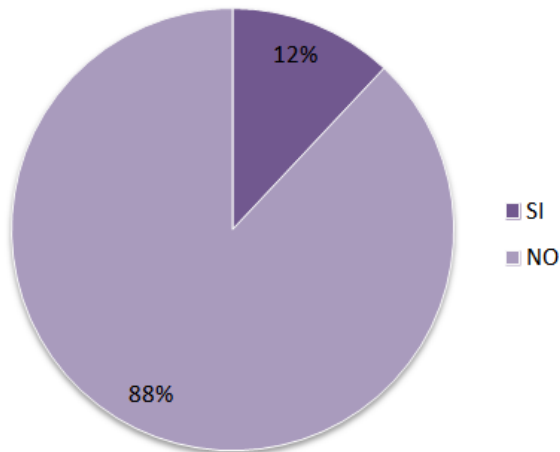
Un total de 5 alumnos, equivalente al 15,1% de la población de estudio, padecía de síndrome de intestino irritable. El hecho de sufrir esta patología es parte de los criterios de exclusión del estudio, por lo tanto, los sujetos que respondieron de forma positiva a este ítem no se incluyeron de forma directa en la evaluación del estrés académico.

Se decidió distinguir entre los alumnos que seguían algún tipo de dieta restrictiva, como vegetariana o vegana, ya que esto podría influir en los resultados, por la eliminación de grupos de alimentos de la dieta, lo que conlleva a un déficit de ciertos nutrientes esenciales. Además, estos alumnos podían ser reticentes a consumir algún tipo de derivado lácteo. Hubo un alumno (3%) que indicó seguir algún tipo de dieta restrictiva, el cual no fue considerado como parte directa del estudio.

El consumo de kéfir fue una de las variantes más significativas, ya que está relacionado directamente con el objetivo de este estudio, mediante el cual se pretende establecer una relación entre el consumo de kéfir con una mejoría en los parámetros de medición del estrés académico.

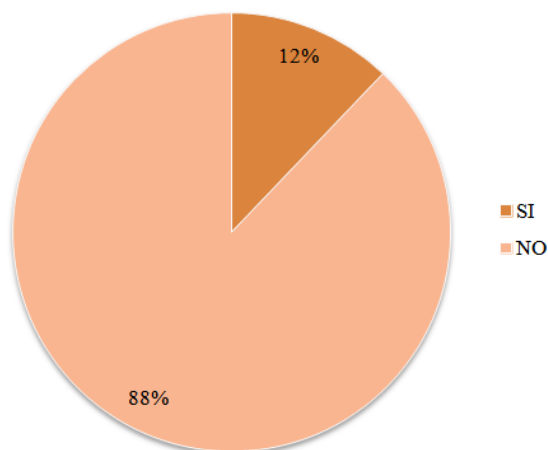
Del total de 33 alumnos que respondieron la encuesta de inicio, cuatro de ellos, equivalente a un 12,1% consumían kéfir. Sin embargo, uno de estos alumnos no cumplía con los criterios de inclusión, por lo tanto no fue incluido en estos resultados posteriores.

GRÁFICO 1: Número de alumnos v/s consumo de kéfir



El consumo de alimentos probióticos y/o de suplementos de omega-3, al igual que el consumo de kéfir, es de especial interés en este estudio. El consumo de alimentos probióticos de forma sostenida puede contribuir a mantener una flora bacteriana saludable, mientras que el consumo adecuado de AGPI w-3 se asocia a un equilibrio en la producción de hormonas del estrés, y procesos de neurotransmisión óptimos. Un total de cuatro alumnos (12,1%) afirmaron consumir alimentos probióticos del tipo bebida láctea.

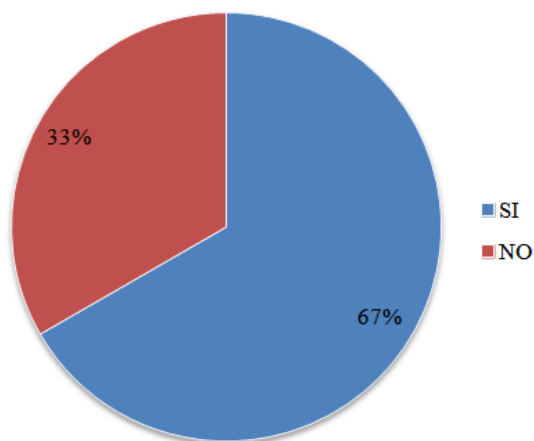
GRÁFICO 2: Número de alumnos v/s consumo de alimentos probióticos y/o suplementos de w-3



Una dieta saludable y variada, compuesta por todos los grupos alimenticios, es fundamental para mantener una flora bacteriana saludable. Esta dieta debe estar compuesta de alimentos del tipo prebióticos, los cuales proporcionan fuentes de carbono específicas para bacterias probióticas residentes en los intestinos y que favorecen la proliferación selectiva de las mismas (42). Esto quiere decir que el consumo de kéfir o de alimentos probióticos, y una dieta saludable y rica en prebióticos, son variables complementarias.

Un 66,6% de los alumnos indicó seguir una dieta saludable y variada (reducida en grasas saturadas y azúcares simples, rica en fibra, vitaminas y minerales) versus un 33,3% que refirió no cumplir con este criterio.

GRÁFICO 3: N° de alumnos v/s seguimiento de dieta saludable y variada



Del universo total de 33 alumnos encuestados inicialmente, 27 de ellos, equivalente a un 82%, cumplió con las variables definidas como criterios de inclusión, mientras que 6 alumnos, equivalente a un 18% del total no cumplieron con los criterios de inclusión, por lo tanto, no se incluyeron de forma directa en el estudio.

3. MEDICIÓN DEL NIVEL DE ESTRÉS ACADÉMICO EN ESTUDIANTES DE LA FACULTAD DE FARMACIA: APLICACIÓN DE INVENTARIO SISCO VALIDADO AL CONTEXTO BUMANGUÉS

3.1 CLASIFICACIÓN SEGÚN PRESENCIA DE ESTRÉS ACADÉMICO EN ESTUDIANTES UNIVERSITARIOS

De los 33 alumnos que respondieron la encuesta inicial, 6 fueron excluidos ya que no cumplían con los criterios de inclusión, por lo que finalmente el estudio consideró un total de 27 estudiantes.

De este universo, según los inventarios aplicados al inicio y al final del estudio, el 100% evidenció estrés académico, según manifestación de preocupación y/o angustia.

3.2 CLASIFICACIÓN DEL NIVEL DE ESTRÉS ACADÉMICO EN ESTUDIANTES DE LA FACULTAD DE FARMACIA

La clasificación del nivel de estrés académico según puntaje total en los estudiantes de primer año, arrojó que un 65% y un 59,2% de los encuestados, presentaron respectivamente un nivel de estrés académico alto en las mediciones realizadas al inicio y final del estudio (tabla 1).

TABLA 1: Clasificación del nivel de estrés académico según puntaje total y consumo de kéfir

Nivel de Estrés	Primera medición		Segunda medición	
	N° de Alumnos N=27 (%)	Consumidores de kéfir	N° de Alumnos N=27 (%)	Consumidores de kéfir
Bajo	5 (18,5)	0	3 (11,1)	0
Medio Bajo	0 (0)	0	0 (0)	0
Medio	0 (0)	0	1 (3,7)	0
Medio Alto	5 (18,5)	2	7 (25,9)	2
Alto	17 (65,3)	1	16 (59,2)	3

Para la clasificación según puntaje total, de los tres alumnos que indicaron consumir kéfir al inicio del estudio, dos de ellos presentaron un nivel medio-alto de estrés académico, y uno de ellos un nivel alto de estrés académico. Luego de cuatro semanas, al concluir el estudio, un total de cinco alumnos indicaron estar consumiendo kéfir, de los cuales, dos presentaron un nivel medio-alto y tres de ellos un nivel alto de estrés académico en la segunda medición.

Dentro del puntaje total, el nivel de estrés académico se diferencia además por puntajes obtenidos para cada una de las dimensiones, estresores, síntomas, y estrategias de afrontamiento, por lo cual se destaca a continuación la clasificación de éste para cada una de las dimensiones mencionadas con el fin de conocer cómo se distribuyó el nivel de estrés académico en los estudiantes.

3.2.1 CLASIFICACIÓN DEL NIVEL DE ESTRÉS ACADÉMICO SEGÚN DIMENSIÓN ESTRESORES

Con respecto a esta dimensión, se clasificó el estrés académico presentado por los estudiantes en cuanto a factores o estímulos del ámbito educativo que significaron presión o sobrecarga para ellos.

En la tabla 2 se observa la clasificación del nivel de estrés académico en los 27 alumnos, según la dimensión estresores en la primera y segunda medición.

TABLA 2: Clasificación del nivel de estrés académico según dimensión estresores y consumo de kéfir

Nivel de Estrés: dimensión estresores	Primera medición		Segunda medición	
	N° de Alumnos N=27 (%)	Consumidores de kéfir	N° de Alumnos N=27 (%)	Consumidores de kéfir
Bajo	4 (14,8)	0	3 (11,1)	1
Medio Bajo	0 (0)	0	0 (0)	0
Medio	1 (3,7)	1	2 (7,4)	1
Medio Alto	3 (11,1)	0	6 (22,2)	1
Alto	19 (70,3)	2	16 (59,2)	2

Para la clasificación del estrés académico según dimensión estresores, de los tres alumnos que indicaron consumir kéfir al inicio del estudio, uno de ellos presentó un nivel medio de estrés académico, y los otros dos un nivel alto de estrés académico en relación a la cantidad de variables que percibieron como estímulos estresores.

Según los resultados correspondientes a la segunda medición, un total de tres alumnos manifestó un bajo nivel de estrés académico para la dimensión estresores, uno de los cuales era consumidor de kéfir. Los demás consumidores variaron entre un nivel medio de estrés académico a un nivel alto para esta dimensión.

A continuación, la tabla 3 detalla los estresores que resultaron ser más prevalentes en el nivel de estrés de los alumnos de primer año en ambas mediciones.

TABLA 3: Estresores más prevalentes

Estímulo estresor	Puntaje medio obtenido
“Sobrecarga de tareas y trabajos escolares”	3,75
“Evaluaciones de los profesores (exámenes, ensayos, trabajos de investigación, etc.)”	3,68
“Temor a equivocarse en las respuestas”	3,5

3.2.2 CLASIFICACIÓN DEL NIVEL DE ESTRÉS ACADÉMICO SEGÚN DIMENSIÓN SÍNTOMAS

Teniendo en cuenta las manifestaciones del estudiante frente al estrés académico, se clasificó el nivel de estrés presentado por los estudiantes en cuanto a sintomatología presentada.

En la tabla 4 se observa la clasificación del nivel estrés académico en los 27 alumnos, según la dimensión síntomas en la primera y segunda medición.

TABLA 4: Clasificación del nivel de estrés académico según dimensión síntomas y consumo de kéfir

Nivel de Estrés: dimensión síntomas	Primera medición		Segunda medición	
	N° de Alumnos N=27 (%)	Consumidores de kéfir	N° de Alumnos N=27 (%)	Consumidores de kéfir
Bajo	3 (11,1)	0	2 (7,4)	0
Medio Bajo	1 (3,7)	0	0 (0)	0
Medio	1 (3,7)	0	1 (3,7)	0
Medio Alto	4 (4,8)	1	6 (22,2)	1
Alto	18 (66,6)	2	18 (66,6)	4

Para la clasificación según dimensión síntomas, de los tres alumnos que indicaron consumir kéfir, uno de ellos presentó un nivel medio alto de estrés académico, y los otros dos un nivel alto de estrés académico en relación a la cantidad de síntomas que manifiestan e intensidad de éstos, en momentos que perciben situaciones estresantes para ellos.

Respecto de la segunda medición, de un total de cinco alumnos que indicaron estar consumiendo kéfir, uno presentó un nivel medio alto de estrés académico para esta dimensión, los otros cuatro un nivel alto.

En relación a los síntomas asociados al estrés académico, la tabla 5 resume cuales fueron los más prevalentes en la población estudiada.

TABLA 5: Síntomas más prevalentes

Síntomas	Puntaje medio obtenido
“Mayor necesidad de dormir”	3,8
“Ansiedad”	3,3
“Problemas de concentración”	3,1

3.2.3 CLASIFICACIÓN DEL NIVEL DE ESTRÉS ACADÉMICO SEGÚN DIMENSIÓN AFRONTAMIENTO

En esta dimensión se midió el nivel de estrés académico presentado por los alumnos en cuanto a aquellos procesos que se desarrollan para manejar los estresores percibidos. Los resultados se detallan en la tabla 6.

TABLA 6: Clasificación del nivel de estrés académico según dimensión afrontamiento y consumo de kéfir

Nivel de Estrés: dimensión afrontamiento	Primera medición		Segunda medición	
	N° de Alumnos N=27 (%)	Consumidores de kéfir	N° de Alumnos N=27 (%)	Consumidores de kéfir
Bajo	1 (3,7)	0	2 (7,4)	0
Medio Bajo	2 (7,4)	0	2 (7,4)	0
Medio	2 (7,4)	0	1 (3,7)	0
Medio Alto	3 (11,1)	1	4 (14,8)	0
Alto	19 (70,3)	2	18 (66,6)	5

Para la clasificación según dimensión afrontamiento, de los tres alumnos que indicaron consumir kéfir al inicio del estudio, uno de ellos presentó un nivel medio alto de estrés académico, y los otros dos un nivel alto de estrés académico en relación a la cantidad de estrategias que utilizan para afrontar las situaciones que están percibiendo como estresantes, y la regularidad con que utilizan dichas estrategias; es decir, que buscan alternativas para restablecer su equilibrio sistémico.

Respecto de la segunda medición, los cinco alumnos que indicaron estar consumiendo kéfir al final del estudio, presentaron un nivel de estrés académico alto en la segunda medición para la categoría de estrategias de afrontamiento.

En relación a cómo los alumnos enfrentan el estrés académico, se evaluaron las estrategias que ellos establecieron para enfrentar los estresores percibidos. Los resultados se muestran en la tabla 7.

TABLA 7: Estrategias de afrontamiento más prevalentes

Estrategias de afrontamiento	Puntaje medio obtenido
“Elaboración de un plan y ejecución de sus tareas”	3,71
“Defender sus ideas sin dañar a otros”	3,53
“Cambio de actividades”	2,93

4. ESTUDIO DE CASOS DE ALUMNOS CONSUMIDORES DE KÉFIR Y RESULTADOS DE INVENTARIO SISCO

Dado el reducido número de alumnos que resultaron ser consumidores de kéfir al inicio y final del presente estudio, los cuales correspondieron a muestras de dos y cinco alumnos respectivamente, es que se detallan a continuación cada uno los casos. Éstos son parte de los 27 alumnos que cumplieron con los criterios de inclusión al inicio del estudio.

Con el fin de obtener una mayor cantidad de datos de dichos alumnos, es que se adicionaron variables que podrían influir de cierta manera en los resultados obtenidos a través de la aplicación del inventario SISCO del estrés académico.

CASO N° 1

DESCRIPCIÓN: Estudiante de sexo femenino.

ORIGEN: Vive junto a su familia en la quinta región.

EDAD: Nacida el 12 de diciembre de 1991, 23 años.

NACIMIENTO: Parto normal.

LACTANCIA: Recibió lactancia materna hasta los 6 meses, y se le incorporó la alimentación complementaria a partir de la misma edad.

ESTILO DE VIDA Y SALUD: Persona aparentemente sana, padece rinitis alérgica sin tratamiento farmacológico. Realiza actividad física de 2 a 3 veces por semana, con una duración de 30 minutos por vez. No presenta hábito de tabaquismo y refiere consumir bebidas alcohólicas de manera ocasional con una frecuencia promedio de 2 veces al mes. Refiere además, dormir entre 6 a 9 horas diarias.

DIETA: La alumna refiere tener una dieta saludable y variada (reducida en grasas saturadas y azúcares simples, rica en fibra, vitaminas y minerales).

Promedio de kilocalorías diarias consumidas: 1750Kcal/día

Promedio del consumo diario de fibra dietética: 13g /día

Promedio de volumen de líquidos diarios ingeridos: 900 ml/día

CARGA ACADÉMICA: Cursa durante el presente semestre un total de 6 ramos de carrera, y su promedio de notas correspondiente al primer semestre de 2015 es de 5.9, el cual es óptimo en relación al promedio general del curso (5.1).

CONSUMO DE KÉFIR: Según encuesta inicial aplicada en el mes de septiembre, la alumna no consumía kéfir. Al finalizar el estudio, tras realizar la segunda encuesta en el mes de noviembre, refirió estar consumiendo kéfir desde hace 3 a 4 semanas, 1 vez al día la cantidad de 1 taza (200cc).

RESULTADOS DEL NIVEL DE ESTRÉS ACADÉMICO

CASO 1	Primera medición 8 de octubre de 2015		Segunda medición 13 de noviembre de 2015	
	PUNTOS	CATEGORÍA	PUNTOS	CATEGORÍA
Estresores	31	ALTO	27	MEDIO-ALTO
Síntomas	64	ALTO	45	ALTO
Estrategias de afrontamiento	29	ALTO	25	ALTO
Puntaje total	124	ALTO	97	MEDIO-ALTO
CONSUMO KÉFIR	NO		SI	

CASO N° 2

DESCRIPCIÓN: Estudiante de sexo femenino.

ORIGEN: No vive junto a su familia en la quinta región por motivos de estudio.

EDAD: Nacida el 4 de agosto de 1995, 20 años.

NACIMIENTO: Parto normal.

LACTANCIA: Recibió lactancia materna hasta los 18 meses, y se le incorporó la alimentación complementaria a partir de los 6 meses de edad.

ESTILO DE VIDA Y SALUD: Persona aparentemente sana, sin antecedentes de patologías crónicas. Realiza actividad física 3 veces por semana, con una duración de 90 minutos por vez. No presenta hábito de tabaquismo y refiere consumir bebidas alcohólicas de manera ocasional con una frecuencia promedio de 4 veces al mes. Refiere además, dormir 5 horas diarias.

DIETA: La alumna refiere tener una dieta saludable y variada (reducida en grasas saturadas y azúcares simples, rica en fibra, vitaminas y minerales).

Promedio de kilocalorías diarias consumidas: 1480 Kcal/día

Promedio del consumo diario de fibra dietética: 18g /día

Promedio de volumen de líquidos diarios ingeridos: 1500 ml/día

CARGA ACADÉMICA: Cursa durante el presente semestre un total de 5 ramos de carrera, y su promedio de notas correspondiente al primer semestre de 2015 es de 5.4, el cual es óptimo, pues se encuentra por sobre el promedio general del curso (5.1).

CONSUMO DE KÉFIR: Según encuesta inicial aplicada en el mes de septiembre, la alumna consumía kéfir. Al finalizar el estudio, tras realizar la segunda encuesta en el mes de noviembre, refirió seguir consumiendo kéfir, 1 vez al día la cantidad de 1 taza (200cc), desde hace 6 semanas.

RESULTADOS DEL NIVEL DE ESTRÉS ACADÉMICO

CASO 2	Primera medición		Segunda medición	
	15 de octubre de 2015		12 de noviembre de 2015	
	PUNTOS	CATEGORÍA	PUNTOS	CATEGORÍA
Estresores	36	ALTO	35	ALTO
Síntomas	63	ALTO	57	ALTO
Estrategias de afrontamiento	23	ALTO	22	ALTO
Puntaje total	122	ALTO	114	ALTO
CONSUMO KÉFIR	SI		SI	

CASO N° 3

DESCRIPCIÓN: Estudiante de sexo femenino.

ORIGEN: Vive junto a su familia en la quinta región.

EDAD: Nacida el 24 de marzo de 1995, 20 años.

NACIMIENTO: Parto normal.

LACTANCIA: Recibió lactancia materna hasta los 12 meses, y se le incorporó la alimentación complementaria a partir de la misma edad.

ESTILO DE VIDA Y SALUD: Persona aparentemente sana, sin antecedentes de patologías crónicas. Realiza actividad física 2 veces por semana, con una duración de 180 minutos por vez. No presenta hábito de tabaquismo y refiere consumir bebidas alcohólicas de manera ocasional con una frecuencia promedio de 2 veces al mes. Refiere además, dormir 6,5 horas diarias.

DIETA: La alumna refiere tener una dieta saludable y variada (reducida en grasas saturadas y azúcares simples, rica en fibra, vitaminas y minerales).

Promedio de kilocalorías diarias consumidas: 1820 Kcal/día

Promedio del consumo diario de fibra dietética: 19g /día

Promedio de volumen de líquidos diarios ingeridos: 1400 ml/día

CARGA ACADÉMICA: Cursa durante el presente semestre un total de 5 ramos de carrera, y su promedio de notas correspondiente al primer semestre de 2015 es de 4.4, el cual es deficiente, comparado con el promedio general del curso (5.1).

CONSUMO DE KÉFIR: Según encuesta inicial aplicada en el mes de septiembre, la alumna consumía kéfir. Al finalizar el estudio, tras realizar la segunda encuesta en el mes de noviembre, refirió seguir consumiendo kéfir, 1 vez al día la cantidad de media taza (100cc), desde hace 8 semanas.

RESULTADOS DEL NIVEL DE ESTRÉS ACADÉMICO

CASO 3	Primera medición		Segunda medición	
	8 de octubre de 2015		4 de noviembre de 2015	
	PUNTOS	CATEGORÍA	PUNTOS	CATEGORÍA
Estresores	26	MEDIO	22	BAJO
Síntomas	43	ALTO	41	MEDIO-ALTO
Estrategias de afrontamiento	21	MEDIO-ALTO	26	ALTO
Puntaje total	93	MEDIO-ALTO	89	MEDIO-ALTO
CONSUMO KÉFIR	SI		SI	

CASO N° 4

DESCRIPCIÓN: Estudiante de sexo femenino.

ORIGEN: Vive junto a su familia en la quinta región.

EDAD: Nacida el 3 de octubre de 1995, 20 años.

NACIMIENTO: Parto normal.

LACTANCIA: Recibió lactancia materna hasta los 4 meses, y se le incorporó la alimentación complementaria a partir de los 6 meses de edad.

ESTILO DE VIDA Y SALUD: Persona aparentemente sana, sin antecedentes de patologías crónicas. Realiza actividad física 2 veces por semana, con una duración de 60 minutos por vez. No presenta hábito de tabaquismo y refiere consumir bebidas alcohólicas de manera ocasional con una frecuencia de 3 veces al mes. Refiere además, dormir entre 5 y 6 horas diarias.

DIETA: La alumna refiere tener una dieta saludable y variada (reducida en grasas saturadas y azúcares simples, rica en fibra, vitaminas y minerales).

Promedio de kilocalorías diarias consumidas: 1600 Kcal/día

Promedio del consumo diario de fibra dietética: 11 g/día

Promedio de volumen de líquidos diarios ingeridos: 1200 ml/día

CARGA ACADÉMICA: Cursa durante el presente semestre un total de 6 ramos de carrera, y su promedio de notas correspondiente al primer semestre de 2015 es de 5.3, el cual es óptimo ya que se encuentra por sobre el promedio general del curso (5.1).

CONSUMO DE KÉFIR: Según encuesta inicial aplicada en el mes de septiembre, la alumna consumía kéfir. Al finalizar el estudio, tras realizar la segunda encuesta en el mes de noviembre, refirió seguir consumiendo kéfir, 1 vez al día la cantidad de media taza (100cc), desde hace 8 semanas.

RESULTADOS DEL NIVEL DE ESTRÉS ACADÉMICO

CASO 4	Primera medición		Segunda medición	
	8 de octubre de 2015		5 de noviembre de 2015	
	PUNTOS	CATEGORÍA	PUNTOS	CATEGORÍA
Estresores	31	ALTO	31	ALTO
Síntomas	42	MEDIO-ALTO	45	ALTO
Estrategias de afrontamiento	22	ALTO	24	ALTO
Puntaje total	95	MEDIO-ALTO	100	ALTO
CONSUMO KÉFIR	SI		SI	

CASO N° 5

DESCRIPCIÓN: Estudiante de sexo femenino.

ORIGEN: Vive junto a su familia en la quinta región.

EDAD: Nacida el 10 de enero de 1997, 18 años.

NACIMIENTO: Parto normal.

LACTANCIA: Recibió lactancia materna hasta los 6 meses, y se le incorporó la alimentación complementaria a partir de la misma edad.

ESTILO DE VIDA Y SALUD: Persona aparentemente sana, sin antecedentes de patologías crónicas. Realiza actividad física 2 veces por semana, con una duración de 30 minutos por vez. No presenta hábito de tabaquismo y refiere consumir bebidas alcohólicas de manera ocasional con una frecuencia promedio de 2 veces al mes. Refiere además, dormir 6 horas diarias.

DIETA: La alumna refiere tener una dieta saludable y variada (reducida en grasas saturadas y azúcares simples, rica en fibra, vitaminas y minerales).

Promedio de kilocalorías diarias consumidas: 1700 Kcal/día

Promedio del consumo diario de fibra dietética: 15 g /día

Promedio de volumen de líquidos diarios ingeridos: 1050 ml/día

CARGA ACADÉMICA: Cursa durante el presente semestre un total de 6 ramos de carrera, y su promedio de notas correspondiente al primer semestre de 2015 es de 5.9, el cual es óptimo al ser comparado con el promedio general del curso (5.1).

CONSUMO DE KÉFIR: Según encuesta inicial aplicada en el mes de septiembre, la alumna no consumía kéfir. Al finalizar el estudio, tras realizar la segunda encuesta en el mes de noviembre, refirió estar consumiendo kéfir desde hace 2 semanas, de manera ocasional (menos de 1 vez a la semana) la cantidad de una taza (200cc).

RESULTADOS DEL NIVEL DE ESTRÉS ACADÉMICO

CASO 5	Primera medición 8 de octubre de 2015		Segunda medición 5 de noviembre de 2015	
	PUNTOS	CATEGORÍA	PUNTOS	CATEGORÍA
Estresores	31	ALTO	26	MEDIO
Síntomas	51	ALTO	54	ALTO
Estrategias de afrontamiento	25	ALTO	27	ALTO
Puntaje total	107	ALTO	107	ALTO
CONSUMO DE KÉFIR	NO		SI	

DISCUSIÓN

1. AISLAMIENTO Y DETECCIÓN DE BACTERIAS PSICOBÍOTICAS DESDE KÉFIR: MEDIANTE LA TÉCNICA DE REDUCCIÓN DE CLORURO DE TRIFENIL TETRAZOLIO A TRIFENIL FORMAZÁN

Para la obtención de bacterias que fueron sometidas a estudio, se sembró el fermentado lácteo de kéfir en un medio de cultivo Agar Leche, cuya formulación permite la enumeración de bacterias viables desde leche y otros productos lácteos. Este medio de cultivo está compuesto por casaminoácidos, extracto de levadura, D-glucosa, leche desnatada en polvo y agar, lo que otorga un pH final de 7,2 +/- 0,2 (43). En este estudio, para la detección de bacterias productoras, el medio de cultivo fue suplementado además con trifenil tetrazolio (TTC) en una concentración de 0,1 % (P/VOL) para la detección de cambios en la síntesis de ácidos grasos que forman parte de la membrana celular de las bacterias aisladas. Las sales de cloruro de tetrazolio han sido usadas clásicamente para cuantificar la actividad metabólica de microorganismos en ambientes naturales. El TTC es reducido por enzimas deshidrogenasas presente en el sistema transportador de electrones de microorganismos aeróbicos, facultativos y anaeróbicos que permanecen viables. La sal de tetrazolio es incolora, pero cuando es reducida a formazán por acción del metabolismo microbiano, forma un color rojo brillante. Esto ocurre dado que el TTC compite con el NAD^+ y NADP^+ por los electrones que pasan entre la ubiquinona y el citocromo b en la cadena de transporte de electrones. Como TTC es un aceptor de electrones, se reduce a un formazán de color rojo que puede ser detectado colorimétricamente. (Velegaki y Logotheti, 1998) (44).

Si bien es cierto, la formación de formazán por la actividad de la cadena de transporte de electrones puede ser considerada presente en todas las bacterias metabólicamente activas, se ha sugerido que la presencia de la enzima $\alpha 5$ desaturasa que forma parte de las vías de síntesis de ácidos grasos y una forma de deshidrogenasa responsable de la reducción de ácido linoleico a ácido araquidónico (AA), estaría participando en la reducción de TTC a TF en células que no presentan actividad en la cadena de transporte de electrones (Zhu et al., 2004) (38). Este método ha sido empleado para detectar bacterias marinas que usan esta enzima para producir ácidos grasos poliinsaturados ω -3, como EPA, convirtiendo ácido eicosatetraenoico (ETA) en ácido eicosapentaenoico (EPA) (Ratledge, 2001) (45).

Los resultados obtenidos en este estudio, muestran que las bacterias aisladas a partir de kéfir, cuando fueron sometidas a la prueba de cloruro de trifenil tetrazolio a distintas temperaturas, arrojaron un cambio de coloración. Esta variación colorimétrica al estar relacionada con la presencia de la enzima $\alpha 5$ desaturasa, caracterizaría a las bacterias del kéfir como posibles productoras de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, ácido araquidónico y ácido eicosapentaenoico.

Cabe destacar que dicho cambio de coloración, ocurrió cuando las colonias fueron incubadas directamente a 15°C, lo que implica que el metabolismo bacteriano se ve reducido y la membrana citoplasmática requiere sintetizar ácidos grasos que le permitan mantener su fluidez y por tanto funcionalidad y estabilidad a esa temperatura. Lo mismo ocurrió para las diluciones D0 y D1, que fueron incubadas a 15 °C luego de haber sido incubadas a 37°C, temperatura a la cual no hubo reacción positiva. De manera interesante también se observó que las mismas colonias del microorganismo aislado al ser incubadas a 37°C no produjeron una coloración roja debido a la producción de formazán.

Posiblemente los resultados obtenidos indican que la reducción de tetrazolio en las bacterias aisladas es específica y dependiente de la enzima $\alpha 5$ desaturasa. Por esta razón se sugieren estudios futuros destinados a constatar la presencia y actividad de esta enzima.

Los resultados obtenidos pueden explicarse por la adaptación de la membrana mediante modificaciones estructurales a través de cambios en el grado de saturación de ácidos grasos para preservar la fluidez de membrana. Esta adaptación puede implicar isomerización cis/trans, cambios en el grado de saturación/insaturación y las relaciones de aumento/disminución de la longitud de cadena entre los ácidos grasos. La respuesta adaptativa al estrés por temperaturas bajas se ha reportado en bacterias ácido lácticas, mostrando que esta varía entre especies y en relación con las condiciones de temperatura (Cao-Hoang et al, 2008) (46).

Por ejemplo, la razón entre ácidos grasos insaturados y saturados es inversamente correlacionada con la temperatura de crecimiento. Se ha observado un incremento en los ácidos grasos palmítico C16:0 y linoleico w-6 C18:2 en *Lactobacillus acidophilus* creciendo a baja temperatura (Fernández Murga et al., 2000). La concentración del ácido graso oleico C18:1 aumentó en respuesta a la baja temperatura en *L. plantarum*. En contraste, la fracción de ácido graso oleico C18:1 disminuyó en respuesta a la congelación en estreptococos lácticos, y el secado por pulverización en *L. acidophilus*. Una alta concentración de ciclopropil nonadecanóico cycC19:0 favorece la criotolerancia en *L. bulgaricus*, *L. helveticus* y *L. acidophilus* ya que actúa sobre la fluidez de membrana (47). Tales descubrimientos hallados en bacterias ácido lácticas, son de especial importancia en el presente estudio, ya que nos permite relacionar dichas adaptaciones de membrana con lo que podría ocurrir en los géneros bacterianos que se encuentran en el kéfir: *L. plantarum*

(Witthuhn, Shoeman, & Britz, 2005), *L. acidophilus* (Kok-Tas, Ekinci & Guzel-Seydim, 2012), *L. bulgaricus* (Yuksekdag et al. 2004) y *L. helveticus* (Kok-Tas, et al., 2012) (21); caracterizando su respuesta como microorganismos capaces de producir ácidos grasos del tipo poliinsaturado con el fin de mantener la fluidez de membrana a baja temperatura.

Para determinar la naturaleza química de los cambios ocurridos en la producción y composición de ácidos grasos en las bacterias aisladas, se sugieren estudios futuros que mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas, permitan identificar el tipo de ácidos grasos sintetizados durante bajas temperaturas de incubación.

1.1 PRODUCCIÓN BACTERIANA DE ÁCIDOS GRASOS

Según los resultados obtenidos tras la producción de fermentado lácteo de kéfir a 15° C se puede considerar que la producción de kéfir debiese ser a baja temperatura, en reemplazo de la producción a temperatura ambiente o a 37 °C, con el objetivo de adicionar una fuente de ácidos grasos esenciales poliinsaturados a la dieta habitual de la población.

Los descubrimientos anteriormente expuestos constituyen un hecho de gran importancia para nuevos estudios futuros que relacionen las bacterias del kéfir como productoras de AGPI al controlar la temperatura de crecimiento de éstas. No obstante, existen distintas variables que se deben investigar, que pueden relacionarse con la producción de AGPI y la cantidad que se produce, como son el pH, el oxígeno y la variabilidad en la calidad de la leche usada durante el proceso fermentativo para producir kéfir.

2. EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL CONSUMO DE KÉFIR EN UNA POBLACIÓN DE ESTUDIANTES SOMETIDA A ESTRÉS ACADÉMICO

A partir de los resultados obtenidos tras la aplicación del inventario SISCO a los 27 estudiantes de primer año participantes del estudio, se observó que la totalidad de alumnos presentaron estrés académico en ambas mediciones llevadas a cabo durante el segundo semestre 2015. Además, los resultados arrojaron que más de la mitad de los estudiantes presentaron un nivel de estrés alto en ambas mediciones, y sólo un 18,5% y un 11,1% presentaron un nivel bajo de estrés académico en la primera y segunda medición respectivamente. Esto se encuentra en concordancia con lo expuesto en un estudio realizado en la Universidad de los Lagos en Osorno-Chile, en el cual se observó que del total de los alumnos, el 98,4% señala haber presentado estrés académico durante el semestre, señalando la mayoría de los alumnos niveles altos de estrés académico (48).

Es importante recalcar además, que el 96% de los alumnos del presente estudio, correspondió al sexo femenino, por lo que se ratifica el nivel alto de estrés observado, ya que se ha visto que el estrés aparece como un fenómeno frecuente en los estudiantes del área de la salud especialmente en mujeres (49).

Además, se corrobora el hecho de que la incorporación a la universidad constituye una experiencia estresante que implica afrontar cambios importantes en la forma de enfocar el aprendizaje y el estudio, y en muchos casos, también en la esfera personal. Factores que podrían aumentar el riesgo de que los estudiantes de nuevo acceso a la universidad generen sintomatología clínica (27). Esto puede ser comparado con un estudio realizado en la Universidad de los Andes en Santiago-Chile, en el cual se comparó cursos de

primero a séptimo año de medicina, observándose que el primer año tiene significativamente mayor prevalencia de estrés (50).

Es importante además tener en consideración, que los estudios superiores coinciden con una etapa de la vida en la que el estudiante debe enfrentarse a muchos cambios. Específicamente el ingreso a la universidad coincide con el proceso de separación de la familia, la incorporación al mercado laboral y la incorporación a un medio poco habitual (49).

Para la dimensión estresores, los ítems en que se obtuvo mayor puntaje promedio fueron “sobrecarga de tareas y trabajos escolares”, “evaluaciones de los profesores” y “temor a equivocarse en las respuestas”. Al ser comparado con lo observado en el estudio realizado en la Universidad de Los Lagos, Chile, existe una semejanza en los dos primeros ítems, en relación a los estresores más prevalentes presentados en los resultados de este estudio.

Para la dimensión síntomas, los ítems en que se obtuvo mayor puntaje promedio fueron “mayor necesidad de dormir”, “ansiedad” y “problemas de concentración”. En comparación con el mismo estudio anteriormente mencionado, se observa una coincidencia en dos de los síntomas más prevalentes. Este es un aspecto importante, ya que la somnolencia podría explicar problemas de desempeño: desconcentración, desinterés, olvido, desatención, falta de agilidad mental y vigor físico, factores que pueden generar problemas de desempeño académico (48).

Finalmente, para la dimensión estrategias de afrontamiento, los ítems en que se obtuvo mayor puntaje promedio fueron “elaboración de un plan y ejecución de sus tareas”, “defender sus ideas sin dañar a otros” y “cambio de actividades”. Éstas pueden ser

valoradas como positivas según se plantea en un estudio realizado en la Universidad nacional autónoma de México, en el cual se califica como negativas las estrategias de afrontamiento centradas en la evitación como el distanciamiento social, el pensamiento mágico y la autocrítica. En contraste, los que utilizan estrategias de solución de problemas, reinterpretación positiva, apoyo social y expresión de la emoción, responden de una manera adaptativa y por consiguiente reducen los efectos del estrés en su salud física y mental (51).

2.1 VARIABLES Y NIVEL DE ESTRÉS ACADÉMICO EN ALUMNOS CONSUMIDORES DE KÉFIR

Considerando los resultados expuestos correspondientes a las estudiantes consumidoras de kéfir a lo largo del estudio, las variables que se recabaron durante el mismo y la literatura estudiada, se puede decir que son múltiples los factores que pueden influir directa o indirectamente en el nivel de estrés, tales como la situación personal afectiva, aspectos biológicos-salud, la situación en el hogar, y el quehacer académico en general, además de problemas educativos, pérdidas afectivas, los problemas personales y los familiares (52).

Es importante además destacar, que en este estudio se evaluó sólo el nivel de estrés académico, sin embargo existen distintos tipos de estrés que pueden influir en el individuo y tener una relación indirecta con los puntajes arrojados por el inventario SISCO, entre los cuales se encuentran el estrés amoroso y marital, estrés sexual, estrés familiar, estrés por duelo, estrés médico, estrés ocupacional, estrés académico, entre otros. (Barraza, 2005) (37).

Por otra parte, la cantidad, frecuencia y tiempo de consumo de kéfir, también influiría en la respuesta al estrés, cabe mencionar que no se estableció una dosis de kéfir a consumir ya que se esperaba describir mediante los datos obtenidos, la cantidad y frecuencia habitual en que se ingirió el fermentado lácteo y la posible relación que tendría su consumo con la respuesta al estrés académico. Sin embargo, teniendo en cuenta las distintas variables que podrían tener una influencia en los niveles de estrés académico, se dificultó la posibilidad de observar los efectos del consumo de kéfir en relación a dicho estrés.

Se pudo observar que las alumnas que presentaron disminución en los niveles de estrés académico, consumieron entre media y una taza de kéfir, por un periodo promedio de 5 semanas diariamente, mientras que una de las alumnas, la cual mantuvo sin modificación el nivel de estrés según puntaje total, consumió el fermentado lácteo de manera ocasional por un periodo de 2 semanas. Además, presentó un aumento en los niveles de estrés académico a pesar de que tuvo un consumo constante y diario de media taza de kéfir, consumo que fue de las mismas características que el presentado por una de las alumnas en que se observó una disminución en los niveles de estrés académico. Esto corrobora lo descrito anteriormente en relación a las distintas variables que no fueron controladas en este estudio y que pueden afectar el estrés percibido por los alumnos.

Es relevante además agregar, que la alumna que presentó los mayores puntajes para las dimensiones estresores, síntomas y para el puntaje total en ambas mediciones, corresponde a quien vive alejada de su núcleo familiar, lo que se asemeja a lo descrito en un estudio realizado en la Universidad intercontinental en México, que declara que la tendencia general indica que los estudiantes que viven fuera de la familia (con amigos o solos) podrían tener niveles de estrés académico más altos que aquellos que aún viven en familia

(49); sin embargo, a pesar de que presentó los niveles de estrés académico más altos en comparación con las demás consumidoras, éstos disminuyeron a lo largo del estudio, tiempo que fue coincidente con su consumo de kéfir.

Por último, se destaca a una de las alumnas, que obtuvo los puntajes más bajos de estrés académico para las dimensiones estresores, síntomas y puntaje total, incluso variando de categoría para la dimensión estresores de un nivel medio a bajo en el periodo de 4 semanas del estudio, la cual refirió un consumo de media taza (100c) de fermentado lácteo, de manera constante por un periodo de 8 semanas, lo que podría explicarse por el prolongado tiempo de consumo, posiblemente asociado a diversas variables favorables.

A pesar de que los resultados obtenidos son avalados por la bibliografía ya mencionada, no fue posible realizar un análisis estadístico, por lo que no se puede afirmar que el aumento o la disminución en los niveles de estrés académico estén relacionados con el consumo de kéfir.

La hipótesis planteada “el consumo de kéfir conteniendo bacterias capaces de producir ácidos grasos del tipo poliinsaturados omega-3, puede asociarse con una mejoría en las respuestas emocionales, conductuales y/o sintomáticas producidas por el estrés académico” no ha podido ser aceptada ni refutada. Esto, ya que a pesar que se logró evidenciar la producción de AGPI a baja temperatura por bacterias de kéfir, no se pudo comprobar que estos fueran del tipo omega 3. Además, no se logró establecer una relación del consumo de kéfir con el nivel de estrés académico en los alumnos que participaron del estudio, debido a que el diseño del estudio y el tamaño de la muestra no fueron acordes al tipo de análisis requerido.

CONCLUSIONES

- La incubación a 15°C de bacterias del género *Lactobacillus* aisladas desde una muestra de kéfir, genera una reacción positiva a la producción de ácidos grasos del tipo poliinsaturados, los cuales son de especial interés, al estar implicados en el correcto funcionamiento del sistema nervioso central.
- Utilizando el método de sales de tetrazolio, la reacción fue positiva para colonias bacterianas de kéfir incubadas a 15°C (D0, D1 y D2), y para colonias bacterianas que fueron incubadas a 15°C tras permanecer a 37°C (D0 y D1).
- La elaboración de fermentado lácteo de kéfir a baja temperatura, se relacionó con una variación en la expresión del perfil de ácidos de grasos de membrana, por lo tanto, se establece un beneficio adicional al realizar dicho procedimiento a un temperatura controlada de 15°C
- En este estudio fue posible establecer que el estrés académico en una población de 27 estudiantes universitarios fue de un 100%, en donde el 96% de la población corresponde al género femenino.
- La ansiedad, problemas de concentración y necesidad de dormir, fueron los síntomas más prevalentes presentados por los estudiantes.
- De la población estudiada, sólo 3 de 27 individuos indicaron ser consumidores de kéfir al inicio del estudio, mientras que al finalizar el estudio 5 de 27 declararon ser consumidores de este producto.

- El nivel de estrés académico (según puntaje total) presentado en promedio por las alumnas consumidoras de kéfir, al inicio y final del estudio fue respectivamente de 103,3 puntos, y de 101,4 puntos que corresponden a la categoría de estrés académico alto.
- No fue posible establecer una relación entre el consumo de kéfir con una mejoría en los parámetros de medición del estrés académico en la población estudiada dado al reducido tamaño muestral obtenido.

LIMITACIONES

- El tamaño de la muestra de alumnos consumidores de kéfir que se logró obtener en este estudio, no fue suficiente para poder realizar un análisis estadístico adecuado que permitiera relacionar las variables consumo de kéfir y estrés académico, como fue propuesto en la hipótesis planteada, resultando en un análisis descriptivo acotado.
- Para lograr establecer una relación entre consumo de kéfir y nivel de estrés académico, se debiera seleccionar una muestra de estudiantes consumidores de kéfir versus una muestra de no consumidores, pudiendo así comparar la respuesta al estrés obtenida para ambos grupos. Además, sería de gran interés realizar un estudio clínico controlado, donde se establezca una dosis específica de fermentado lácteo a consumir versus un grupo placebo. Sin embargo, el presente estudio no fue planteado de dicha manera con el fin de resguardar la inocuidad alimentaria y la bioética.
- El presente estudio fue referido a dos líneas de trabajo que diferían ampliamente entre sí. Una de ellas correspondió a trabajo experimental de tipo microbiológico, mientras que la segunda parte correspondió a trabajo descriptivo ligado a la psicología. Pretender relacionar ambas áreas conlleva una mayor dificultad ya que precisa de un planteamiento metodológico distinto y un mayor tiempo destinado a la realización del estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Schrezenmeir J, de Vrese M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaching a definition. *Am J Clin Nutr*, 2001, 73(2): 361S-364S.
- (2) Amores R, Calvo A, Vera J. R. M, & Martínez-Hernández D. Probióticos. *Revista Española de Quimioterapia*, 2004, 17(2): 131-139.
- (3) Baroutkoub A, Mehdi R. Z, Beglarian R., Hassan J, Zahra S, Mohammad M. S, & Hadis E. M. Effects of probiotic yoghurt consumption on the serum cholesterol levels in hypercholesteromic cases in Shiraz, Southern Iran. *Scientific Research and Essays*, 2010, 5(16): 2206-2209
- (4) Hasler C. M, Bloch A. S, Thomson C. A, Enrione E, & Manning C. Position of the American Dietetic Association: functional foods. *Journal of the American Dietetic Association*, 2004, 104(5): 814-826.
- (5) Cáceres P, Gotteland M. Probiotics in Chile: Wich are the strains and what are their effects on human health. *Rev Chil. Nutr*, 2010, 37: 97 – 109.
- (6) Lyte M. Probiotics function mechanistically as delivery vehicles for neuroactive compounds: Microbial endocrinology in the design and use of probiotics. *Bioessays*, 2011, 33:574–581.
- (7) Lyte M & Cryan J.F. *Microbial Endocrinology: The Microbiota-Gut-Brain Axis in Health and Diseases*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. New York 2014.

- (8) Schousboe A, & Waagepetersen H. S. GABA: homeostatic and pharmacological aspects. *Progress in brain research*, 2007, 160: 9-19.
- (9) Sánchez-López A, Centurión D, Lozano-Cuenca J, Muñoz-Islas E, Cobos-Puc L. E, Villalón C. M. Receptores de la serotonina que inhiben el tono simpático vasopresor en la rata descerebrada y desmedulada. *Archivos de cardiología de México*, 2009.
- (10) Peaston R.T, & Weinkove C. Determinación de catecolaminas y sus metabolitos. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 2004, 30(2): 225-241.
- (11) Cortada G, & Serrano A. Formulación y estudio de estabilidad de acetilcolina 20 mg, liofilizado para solución oftálmica. *Revista Cubana de Farmacia*, 1998, 32(2): 88-92.
- (12) Dinan TG, Stanton C, Cryan JF. Psychobiotics: a novel class of psychotropic. *Biol Psychiatry*, 2013, Vol. 10: 720-726.
- (13) Berthoud HR, Neuhuber WL. Functional and chemical anatomy of the afferent vagal system. *Auton Neurosci*, 2000, 85: 1-17.
- (14) Dockray GJ. Gastrointestinal hormones and the dialogue between gut and brain. *J Physiol*, 2014, 592: 2927-2941.
- (15) Sánchez P. T, Herreros C. C, & Pérez R. S. Inmunología, estrés, depresión y cáncer. *Psicooncología: investigación y clínica biopsicosocial en oncología*, 2006, 3(1): 35-48.
- (16) Chrousos G. P, Kino T, & Charmandari E. Evaluation of the Hypothalamic-Pituitary- Adrenal Axis Function in Childhood and Adolescence. *Neuroimmunomodulation*, 2009, 16: 272-283.
- (17) Hernández-Cervantes R, Sánchez-Acosta A. G, Ramírez-Nieto R, & Morales- Montor J. Regulación neuroendocrinológica de la función inmunitaria: el papel de la hipófisis y

los esteroides sexuales. Revista Especializada en Ciencias Químico- Biológicas, 2010, 13(2): 103-112.

(18) Farnworth E. R. Kefir a complex probiotic. Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods, 2005, 2: 117.

(19) Beshkova D. M, Simova E. D, Simov Z. I, Frengova G I, & Spasov Z.N. Pure cultures for making kefir. Food Microbiology, 2002, 19: 537–544.

(20) Rodrigues K. L, Gaudino-Caputo L. R, Tavares-Carvalho J. C, Evangelista J, & Schneedorf J. M. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefiran extract. International Journal of Antimicrobial Agents, 2005, 25: 404–408.

(21) Arslan, S. A review: chemical, microbiological and nutritional characteristics of kefir. CyTA-Journal of Food, 2015, 13(3): 340-345.

(22) Irigoyen A, Ortigosa M, Torre P, & Ibanez F. C. Influence of different technological parameters in the evolution of pH during fermentation of kefir. Milchwissenschaft, 2003, 58: 631–633.

(23) Otles S, & Cagindi O. Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. Pakistan Journal of Nutrition, 2003, 2: 54–59.

(24) Sarkar S. Potential of kefir as a dietetic beverage—A review. British Journal of Nutrition, 2007, 109: 280–290.

(25) Liutkevicius A, & Sarkinas A. Studies on the growth conditions and composition of kefir grains – as a food and forage biomass. Veterinarija ir Zootechnika, 2004, 25: 64–70.

(26) Das U. N. Essential fatty acids and their metabolites could function as endogenous HMG-CoA reductase and ACE enzyme inhibitors, anti-arrhythmic, anti-hypertensive, anti-

atherosclerotic, anti-inflammatory, cytoprotective, and cardioprotective molecules. *Lipids Health Dis*, 2008, 7(37): 18.

(27) Tapia A. E. La suplementación con ácidos grasos omega-3 disminuye la agresividad, hostilidad y el comportamiento antisocial. *Revista chilena de nutrición*, 2005, 32(2): 95-101.

(28) Valenzuela R, et al. Omega-3 fatty acids (EPA and DHA) and its application in diverse clinical situations. *Rev Chil Nutr*, 2011, 38: 356-67.

(29) Ross B. M, Seguin J, & Sieswerda L. E. Omega-3 fatty acids as treatments for mental illness: which disorder and which fatty acid. *Lipids Health Dis*, 2007, 6(21): 21.

(30) Hallahan B, & Garland M. R. Essential fatty acids and mental health. *The British Journal of Psychiatry*, 2005, 186(4): 275-277.

(31) Chang J. P. C, Chen Y. T, Su K. P. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids (n-3 PUFAs) in Cardiovascular Diseases (CVDs) and Depression: The Missing Link? *Cardiovascular psychiatry and neurology*, 2009.

(32) Hinzpeter I, Shene C, & Masson L. Alternativas biotecnológicas para la producción de ácidos grasos poliinsaturados omega-3, 2006, 57(3): 336-42.

(33) Duval F, González F, & Rabia H. Neurobiología del estrés. *Revista chilena de neuropsiquiatría*, 2010, 48: 307-318.

(34) Ramírez M, Hernández R. *Ansiedad y Estrés*. 2006.

(35) García-Ros R, Pérez-González F, Pérez-Blasco J, Natividad L. A. Evaluación del estrés académico en estudiantes de nueva incorporación a la universidad. *Revista latinoamericana de psicología*, 2012, 44(2): 143-154.

- (36) Balanza S, Morales I, Guerrero J. Prevalencia de Ansiedad y Depresión en una Población de Estudiantes Universitarios: Factores Académicos y Sociofamiliares Asociados. *Clin y Salud*, 2009.
- (37) Berrío García N, & Mazo Zea R. Estrés académico. *Revista de Psicología Universidad de Antioquia*, 2011, 3(2): 65-82.
- (38) Ryan J, Farr H, Visnovsky S, Vyssotski M, & Visnovsky G. A rapid method for the isolation of eicosapentaenoic acid-producing marine bacteria. *Journal of microbiological methods*, 2010, 82(1): 49-53.
- (39) Droguett C, & Durán N. Compendio de productos con microorganismos probióticos comerciales y caseros consumidos en Chile: Guías alimentarias de elaboración y seguridad microbiológica. Tesis para optar al título de profesional nutricionista grado académico de licenciado de nutrición y dietética. Facultad de farmacia. Universidad de Valparaíso, 2014.
- (40) Jaimes Parada, R. Validación del inventario SISCO del estrés académico en adultos jóvenes de la Universidad Pontificia Bolivariana, Seccional Bucaramanga, 2013.
- (41) Macías A. B. Un modelo conceptual para el estudio del estrés académico. *Revista Electrónica de Psicología Iztacala*, 2006.
- (42) Lozada A. E. El potencial de la manipulación de la flora intestinal por medios dietéticos sobre la salud humana. *Enferm. Infec. Microbiol*, 2001, 21(3): 106-114.
- (43) www.mastgrp.com/IFUS/IFU459_GB.pdf [citado 22 de noviembre 2015].
- (44) Dinamarca M, Cereceda F, Fadic X, Seeger M. Analysis of s-triazine-degrading microbial communities in soils using mostprobable-number enumeration and tetrazolium-salt detection. *Int Microbiol*, 2007, 10:209–215.

- (45) Ratledge C. Microorganisms as sources of polyunsaturated fatty acids. *Struct. Mod. Lipids*, 2001, 351–399.
- (46) Louesdon S, Charlot-Rougé S, Tourdot-Maréchal R, Bouix M, & Béal C. Membrane fatty acid composition and fluidity are involved in the resistance to freezing of *Lactobacillus buchneri* R1102 and *Bifidobacterium longum* R0175. *Microbial biotechnology*, 2015, 8(2): 311-318.
- (47) Tsakalidou E, Papadimitriou K. *Stress responses of lactic acid bacteria*. Springer Science & Business Media, 2011.
- (48) Jerez-Mendoza M, Oyarzo-Barría C. Estrés académico en estudiantes del Departamento de Salud de la Universidad de Los Lagos Osorno. *Revista chilena de neuropsiquiatría*, 2015, 53(3): 149-157.
- (49) Monzón I. M. M. Estrés académico en estudiantes universitarios. *Apuntes de Psicología*, 2007. 25(1): 87-99.
- (50) Marty M, Lavín G, Figueroa M, & Cruz M. Prevalencia de estrés en estudiantes del área de la salud de la Universidad de los Andes y su relación con enfermedades infecciosas. *Revista chilena de neuropsiquiatría*, 2005, 43(1): 25-32.
- (51) Ortiz S, Tafoya S, Farfán A, Jaimes A. Rendimiento académico, estrés y estrategias de afrontamiento en alumnos del programa de alta exigencia académica de la carrera de medicina. *Revista Med*, 2013, 21(1): 29-37.
- (52) Casullo M. M, Fernández M, González R, Montoya I. *Problemas adolescentes en Iberoamérica*, 2001.

ANEXOS

- 1) Encuesta criterios de Inclusión-Exclusión y variables.
- 2) Encuesta Consumo de Kéfir
- 3) Consentimiento Informado
- 4) Inventario SISCO del Estrés Académico, validado al contexto Bumangués
- 5) Guía alimentaria de elaboración y seguridad microbiológica “Kéfir de leche”

ENCUESTA PARA PARTICIPACIÓN EN PROYECTO DE TESIS

Requisitos: Cursar primer año de la carrera de Nutrición y Dietética de la Universidad de Valparaíso.

Edad: _____ años.

Sexo (Marque con una X)

Femenino		Masculino	
----------	--	-----------	--

En caso de ser de sexo femenino, usted, ¿está embarazada o en período de lactancia?

(Marque con una X)

SI		NO	
----	--	----	--

Padece alguna de estas patologías y/o condiciones (Marque con una X)

Síndrome de Intestino Irritable	
Colitis Ulcerosa	
Enfermedad de Crohn	
Resección intestinal	
Cirugía Bariátrica	

Padece alguna patología crónica (Marque con una X)

SI _____	¿Cuál?	NO _____
-------------	--------	-------------

Se encuentra cursando terapia farmacológica con alguno de estos medicamentos

(Marque con una X)

Antibióticos	
Laxantes	
Antiácidos	
NO	

¿Usted sigue algún tipo de dieta restrictiva? (vegana, vegetariana, entre otras) (Marque con una

X)

SI		NO	
----	--	----	--

¿Usted consume kéfir? (Marque con una X)

SI		NO	
----	--	----	--

Consume algún otro alimento probiótico o suplemento de omega-3 (Marque con una X)

SI	¿Cuál?	NO
_____		_____

¿Usted considera que sigue una dieta saludable y variada? (Entiéndase reducida en grasas

saturadas y azúcares simples, rica en fibra, vitaminas y minerales)

SI		NO	
----	--	----	--

Muchas Gracias

Firma del alumno

ENCUESTA PARTICIPACIÓN EN PROYECTO DE TESIS

“Evaluación del kéfir en su efecto psicobiótico en una población de estudiantes universitarios”

Responda las siguientes preguntas marcando con una X

¿Consumió usted kéfir en el último tiempo?

SI		NO	
----	--	----	--

Si su respuesta es SI continúe con la siguiente pregunta

¿Por cuánto tiempo lo consumió?

Menos de 1 semana	
Entre 1 y 2 semanas	
Entre 2 y 3 semanas	
Entre 3 y 4 semanas	
Más de 4 semanas	¿Cuánto tiempo? _____

¿Con que frecuencia consumió Kéfir?

2 o más veces al día	
1 vez al día	
De 4 a 6 veces por semana	
De 2 a 3 veces por semana	
1 vez por semana	
Ocasionalmente (menos de 1 vez a la semana)	

¿Qué cantidad de Kéfir consumió por vez?

Una taza (200cc)	
Media taza (100cc)	
Más de una taza	¿Cuánto? _____
Menos de una taza	¿Cuánto? _____

Muchas Gracias

Firma del alumno

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Estimado(a) Alumno(a):

Le invitamos a participar en un estudio para optar al Título de Profesional Nutricionista, grado académico de Licenciado de Nutrición y Dietética, desarrollado por María Victoria González, Rut 18.256.907-0 y Carla Habash, Rut 18.357.670-4, dirigido por el Profesor Alejandro Dinamarca Tapia.

El estudio se titula “*Evaluación del Kéfir en su efecto psicobiótico en una población de estudiantes universitarios*” y su objetivo es verificar posible efecto psicobiótico de alimento probiótico Kéfir en una población de estudiantes de la Universidad de Valparaíso.

Su participación es **voluntaria** y puede elegir ser o no ser parte del estudio, de modo que si se niega a participar seguirá recibiendo la misma atención que hasta ahora. De igual forma, si usted acepta participar, puede retirarse en cualquier momento que estime conveniente, sin problemas ni sanciones.

Durante el estudio se aplicarán dos encuestas, además de un inventario, al inicio y al término de la investigación. Sus datos serán identificados por medio de sus iniciales, de manera que toda la información recopilada al respecto será **estrictamente confidencial**. Asimismo, es importante destacar que su participación es gratuita y ninguno de los miembros del equipo en este estudio recibirá dinero ni compensaciones por ello. El estudio tiene una duración aproximada de 2 meses.

Formulario de consentimiento informado:

Yo, _____ Rut _____, con fecha ____/____/____, declaro que me ha sido leída y he leído la información proporcionada, he podido aclarar mis dudas y mis preguntas han sido contestadas satisfactoriamente. Autorizo voluntariamente para que se utilice la información solicitada anteriormente.

ACEPTO

INVENTARIO SISCO

Nombre: _____ Edad: _____

Programa: _____ Fecha: _____

Lea atentamente las siguientes recomendaciones.

- a. Responda de manera honesta e individual.
- b. Lea cada ítem o pregunta y responda en la casilla que se encuentra enfrente.
- c. Seleccione una respuesta e indíquela con una **X**, según corresponda. Teniendo en cuenta que (1) es poco y (5) mucho, donde **1 ES NUNCA, 2 ES RARA VEZ, 3 ES ALGUNAS VECES, 4 ES CASI SIEMPRE Y 5 ES SIEMPRE.**
- d. Recuerde seleccionar y responder solo una respuesta por ítems.

1. En el transcurso de este semestre ¿ha tenido momentos en los cuales se ha sentido preocupado o angustiado?

SI _____

NO _____

NOTA: En caso de seleccionar la alternativa "no", el cuestionario se da por concluido, en caso de seleccionar la alternativa "si", pasar a la pregunta número dos y continuar con el resto de las preguntas.

II. Indique con qué frecuencia le inquietaron las siguientes situaciones:

	(1) NUNCA	(2) RARA VEZ	(3) ALGUNAS VECES	(4) CASI SIEMPRE	(5) SIEMPR E
1. Competencia académica con los compañeros del grupo					

2. Sobrecarga de tareas y trabajos escolares					
3. La personalidad del profesor					
4. Evaluaciones de los profesores (exámenes, ensayos, trabajos de investigación, etc.)					
5. El tipo de trabajo que piden los profesores (consulta de temas, ensayos, mapas conceptuales, etc.)					
6. “No” entender los temas que se abordan en clase					
7. Temor a equivocarse en las respuestas					
8. Participación en clase (responder a preguntas, exposiciones, etc.)					
9. Tiempo limitado para hacer el trabajo					
10. Olvidar completamente la información sobre un tema específico (quices, parciales, exposiciones.)					

III. Indique con qué frecuencia tuvo las siguientes reacciones físicas, psicológicas y comportamentales, cuando estaba preocupado o ansioso.

	(1) NUNCA	(2) RARA VEZ	(3) ALGUNAS VECES	(4) CASI SIEMPRE	(5) SIEMPRE
1. Trastornos en el sueño (dificultades al dormir o pesadillas)					
2. Fatiga crónica (cansancio permanente)					
3. Dolores de cabeza					
4. Problemas digestivos (dolor abdominal, diarrea o estreñimiento)					

5. Rascar la piel, morder las uñas, frotar las manos o los brazos.					
6. Mayor necesidad de dormir					
7. Incapacidad de relajarse					
8. Ansiedad					
9. Desesperación					
10. Problemas de concentración					
11. Sentimientos de agresividad					
12. Aumento en la irritabilidad					
13. Aumento de Conflictos					
14. Aislamiento Social					
15. Desgano para realizar las labores académicas					
16. Aumento o reducción del consumo de alimentos					
17. Aumento del consumo de Cafeína					
18. Morder Objetos (chicles, borradores, et.)					

IV. Señale con qué frecuencia utiliza las siguientes estrategias para enfrentar la situación que le causa la preocupación o la ansiedad.

	(1) NUNCA	(2) RARA VEZ	(3) ALGUNAS VECES	(4) CASI SIEMPRE	(5) SIEMPRE
1. Defender sus ideas sin dañar a otros					
2. Elaboración de un plan y ejecución de sus tareas					
3. Elogios a sí mismo					

4. La religiosidad (oraciones o asistencia a misa)					
5. Búsqueda de información sobre la situación					
6. Hablar sobre la situación que preocupa.					
7. Búsqueda de ayuda profesional					
8. Cambio de actividades					

GUÍA ALIMENTARIA DE ELABORACIÓN Y SEGURIDAD MICROBIOLÓGICA “KEFIR DE LECHE”

¿Qué es el Kéfir?

El kéfir es un alimento fermentado que está formado por un consorcio de microorganismos del tipo bacteria ácido lácticas, ácido acéticas y levaduras.

Tipos de Kéfir

1. Kéfir de Leche (pajaritos)
2. Kéfir de Agua (hongos tibetanos)



Kéfir de Leche



Kéfir de Agua

Elaboración

Utensilios:

1. Recipiente higiénico, idealmente de vidrio (cristal), transparente.
2. Tapa que evite el contacto directo con el aire (papel alusa o paño de tela)
3. Colador de plástico
4. Cuchara de plástico



Ingredientes:

1. Nódulos de kéfir.
2. Leche entera, semidescremada, o soja.

Procedimiento:

1. Poner la leche y los nódulos a temperatura ambiente tapados, protegidos de contaminantes externos habituales en las cocinas y hogares.
2. Una vez a temperatura ambiente, colocar el kéfir y la leche juntos en el recipiente.
3. Tapar con un paño y/o papel alusa, y asegurar utilizando un elástico o cordel.
4. Dejar fermentar a temperatura ambiente el tiempo requerido protegido de la luz directa del sol, generalmente entre 24 y 36 horas.
5. Colar la bebida de kéfir y refrigerarla inmediatamente si no se toma recién hecha.
6. Devolver los nódulos de nuevo a leche fresca para repetir el cultivo.

Importante inocuidad microbiológica

Se debe esmerar la higiene ya que se trata de un proceso de fermentación donde no deben estar presentes otros gérmenes ni bacterias ajenas al cultivo de kéfir. Por ende, lo primero siempre será realizar una limpieza total, sobretodo de los recipientes e instrumentos a utilizar. Para ello lavar con agua caliente y un poco de vinagre o usar un jabón natural (jabón pH neutro).

Temperatura

En la fermentación intervienen la temperatura de la leche y también la temperatura ambiental. La leche nunca debe sobrepasar los 35°C ni bajar de 18°C. La franja de temperatura ambiente adecuada es entre 23°C y 28°C.

Contraindicaciones

Se debe evitar y/o moderar su consumo en los siguientes casos:

- Mujeres embarazadas.
- Paciente inmunodeprimido.
(Cursando tratamiento de quimio o radioterapia o con VIH positivo)