

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS CLÍNICAS



TESIS DOCTORAL

“ESTUDIO DE INTERVENCIÓN NUTRICIONAL CON LECHE
FERMENTADA CON *LACTOBACILLUS CASEI* DURANTE
EL PUERPERIO”

Adriana Ortiz Andrellucchi

Las Palmas de Gran Canaria, Abril de 2008

Agradecimientos

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento al Prof. Dr. Lluís Serra Majem por haber depositado en mí su confianza, permitiéndome realizar este trabajo bajo su dirección, especialmente en los primeros momentos y en las fases de incertidumbre, también deseo agradecerle su orientación y apoyo en el diseño y desarrollo de este trabajo.

Agradezco también a la Profa. Dra. Almudena Sánchez Villegas, que siempre me ha animado y me ha brindado su amistad y su ayuda incondicional para poder llevar a cabo esta Tesis Doctoral.

También agradezco a la empresa DANONE S.A. que ha financiado este estudio a través de una beca con la Fundación Universitaria de Las Palmas y en especial al Dr. José M^a Cobo por su apoyo y confianza para poder concretar este trabajo.

Con especial cariño les agradezco a las madres y familias que participaron en este estudio, y a las Matronas de los Centros de Atención Primaria por ayudarnos a poder llevar a cabo esta investigación.

También agradezco al Prof. Dr. Carlos Rodríguez Gallego del Laboratorio de Inmunología del Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín, por sus enseñanzas sobre el manejo del citómetro de flujo, y sobre el apasionante mundo de la inmunología, como así también por sus valiosas aportaciones en la interpretación y discusión de los resultados. Hago extensivo mi reconocimiento al personal sanitario del laboratorio por su buena disposición y sus ganas de ayudar.

Por otra parte deseo expresar mi agradecimiento al Prof. Dr. José Luis Pérez Arellano y al Prof. Dr. José María Limiñana Cañal, por su participación en el diseño de este estudio, como así también a todos los miembros del equipo de investigación sin cuya colaboración no hubiera sido posible concretar este proyecto. Entre los miembros del equipo contamos con el Dr. José García y el Dr. Octavio Ramírez responsables de la selección de las participantes; el Dr. Luis Peña Quintana y la Dra. Milagrosa Santana responsables de la valoración de los niños, todos ellos profesionales del Hospital Universitario Materno Infantil de Canarias; la Dra. Adela Soria del Laboratorio de Bioquímica del Hospital Universitario Insular de Gran Canaria; las Dras. Teresa Molero y Angelina Lemes del Laboratorio de Hematología del Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín; y Félix Cabrera quien fue responsable de la aleatorización y distribución de los productos del estudio.

Mi más sinceras gracias a Magdalena Villanueva Cabrera, Coordinadora de los Grupos de Apoyo de la Asociación Canaria Pro-Lactancia Materna, quien me brindó su ayuda desinteresada y por su compromiso ofreciendo información y ayuda a toda persona que se interese por la salud de la mujer para que lleve un embarazo, parto y una lactancia saludable y gozosa.

Por último quiero expresar mi agradecimiento a mi gente de Mendoza, en especial a Susana, y a mi gente de Gran Canaria por su afecto y apoyo constante, que me han ayudado para seguir adelante y sobre todo quiero expresar mi cariño a esta tierra Canaria que me ha dado la oportunidad de crecer como persona y como profesional.

A mis padres Rosa y Enrique con amor

Cuando mire hacia atrás, verá que, a lo largo de su vida, los momentos en los que verdaderamente ha vivido son los momentos en los que ha hecho las cosas con un espíritu de amor.

Henry Drummond

Índices

	Página
INDICE DE CONTENIDOS	2
INDICE DE TABLAS	5
INDICE DE FIGURAS	8
ABREVIATURAS	10
1. INTRODUCCIÓN	14
1.1. Alimentos funcionales	15
1.1.1. Regulación de las alegaciones de salud	16
1.1.2. Probióticos	18
1.2. Conceptos básicos de la respuesta inmune	21
1.2.1. Conceptos de la respuesta inmune	21
1.2.2. Tipos de sistema de defensa	21
1.2.3. Componentes de la inmunidad innata o inespecífica	22
1.2.4. Componentes de la inmunidad adquirida o específica	23
1.2.5. Respuesta inmune humoral y celular	26
1.2.6. Fases de marcaje y efectora de la respuesta inmune	26
1.3. Inmunología del embarazo y puerperio	28
1.3.1. Equilibrio Th1/Th2 y embarazo	29
1.3.2. Modificaciones inmunológicas en el puerperio	31
1.4. Nutrición, embarazo e inmunidad	31
1.4.1. Aplicaciones de los probióticos durante el puerperio y la lactancia	34
1.5. Efectos inmunológicos de <i>Lactobacillus casei</i>	36
1.6. Justificación del estudio	37
2. OBJETIVOS	39
2.1. Objetivo principal	40
2.2. Objetivos secundarios	40
3. MATERIAL Y MÉTODOS	41
3.1. Tipo de estudio	42
3.2. Tamaño muestral	42
3.3. Selección de la muestra	42
3.3.1. Criterios de inclusión	42

3.3.2. Criterios de exclusión	43
3.3.3. Aleatorización	44
3.3.4. Retirada de participantes del estudio	45
3.4. Productos del estudio	45
3.4.1. Producto a evaluar	45
3.4.2. Producto control	46
3.4.3. Pautas de administración	46
3.4.4. Tratamiento concomitante	47
3.4.5. Medidas para valorar el cumplimiento	47
3.5. Análisis en muestras de sangre materna	47
3.5.1. Análisis de células T secretoras de IFN- γ e IL-4	48
3.5.2. Análisis de las subpoblaciones linfocitarias y hemograma	50
3.5.3. Determinaciones de inmunoglobulinas y factores del sistema complemento	51
3.6. Análisis en muestras de leche materna	51
3.6.1. Recolección y procesamiento	51
3.6.2. Detección de citocinas e IgA	52
3.7. Seguimiento de los niños	53
3.8. Valoración nutricional de la gestante	53
3.8.1. Cuestionario de frecuencia de consumo	54
3.8.2. Tabla de composición de alimentos	54
3.8.3. Tratamiento de las variables dietéticas	54
3.8.4. Calidad de la dieta en el embarazo: <i>Healthy Eating Index</i>	55
3.9. Variables sociodemográficas y del estilo de vida	56
3.10. Desarrollo del estudio	57
3.11. Análisis estadístico	63
4. RESULTADOS	65
4.1. Información general de la madre	66
4.2. Parámetros inmunológicos en sangre materna	70
4.2.1. Perfil Th1/Th2 y perfil Tc1/Tc2	70
4.2.2. Subpoblaciones linfocitarias	72
4.2.3. Fórmula leucocitaria	78
4.2.4. Inmunoglobulinas	83
4.2.5. Factores del sistema complemento	91

4.2.6. Parámetros hematológicos	93
4.3. Citocinas en leche materna	102
4.4. Seguimiento de los niños	110
4.4.1. Datos basales de los niños	110
4.4.2. Seguimiento a los 2 meses	111
4.4.3. Seguimiento a los 6 meses	113
4.5. Evaluación nutricional de la gestante	115
4.5.1. Frecuencia de consumo de alimentos durante el embarazo	115
4.5.2. Modificación del consumo de alimentos durante el embarazo	120
4.5.3. Consumo de alimentos e ingesta media diaria de energía y nutrientes	124
4.5.4. Calidad de la dieta en el embarazo: <i>Healthy Eating Index</i>	128
5. DISCUSIÓN	130
5.1. Inmunidad materna	131
5.2. Leche materna y seguimiento del niño	137
5.3. Evaluación nutricional durante el embarazo	144
5.4. Limitaciones del estudio	148
6. CONCLUSIONES	150
7. RESUMEN/ ABSTRACT	153
8. REFERENCIAS	156
9. ANEXOS	179
ANEXO I	Consentimiento informado - Hoja de Información para la paciente
ANEXO II	Cuestionario de nutrición y salud de la madre lactante
ANEXO III	Fichas pediátricas para el seguimiento del niño
ANEXO IV	Diario de la Madre - Diario del Niño
ANEXO V	Tabla de alimentos en raciones estándares
ANEXO VI	Publicaciones
ANEXO VII	Presentaciones a congresos

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Modulación de la respuesta humoral por bacterias ácido-lácticas	19
Tabla 2	Modulación de la secreción de citocinas por bacterias ácido-lácticas	19
Tabla 3	Protocolo para la detección de citocinas intracelular	48
Tabla 4	Motivos de las pérdidas	63
Tabla 5	Características sociodemográficas por grupo	66
Tabla 6	Datos generales relacionados con la mujer y el embarazo por grupo	67
Tabla 7	Actividad física y hábitos alimentarios durante el embarazo por grupo	68
Tabla 8	Descripción del perfil Th1/Th2 por grupo	70
Tabla 9	Descripción del perfil Tc1/Tc2 por grupo	71
Tabla 10	Número de linfocitos T por grupo a lo largo del tiempo	72
Tabla 11	Número de linfocitos B por grupo a lo largo del tiempo	73
Tabla 12	Número de células CD3/CD4 por grupo a lo largo del tiempo	74
Tabla 13	Número de células CD3/CD8 por grupo a lo largo del tiempo	75
Tabla 14	Número de células NK por grupo a lo largo del tiempo	76
Tabla 15	Número de células <i>NK T-like</i> por grupo a lo largo del tiempo	77
Tabla 16	Número de neutrófilos por grupo a lo largo del tiempo	78
Tabla 17	Número de linocitos por grupo a lo largo del tiempo	79
Tabla 18	Número de monocitos por grupo a lo largo del tiempo	80
Tabla 19	Número de eosinófilos por grupo a lo largo del tiempo	81
Tabla 20	Número de basófilos por grupo a lo largo del tiempo	82
Tabla 21	Niveles de inmunoglobulina G por grupo a lo largo del tiempo	83
Tabla 22	Niveles de inmunoglobulina G1 por grupo a lo largo del tiempo	84
Tabla 23	Niveles de inmunoglobulina G2 por grupo a lo largo del tiempo	85
Tabla 24	Niveles de inmunoglobulina G3 por grupo a lo largo del tiempo	86
Tabla 25	Niveles de inmunoglobulina G4 por grupo a lo largo del tiempo	87
Tabla 26	Niveles de inmunoglobulina A por grupo a lo largo del tiempo	88
Tabla 27	Niveles de inmunoglobulina M por grupo a lo largo del tiempo	89
Tabla 28	Niveles de inmunoglobulina E por grupo a lo largo del tiempo	90
Tabla 29	Niveles de complemento C3 por grupo a lo largo del tiempo	91
Tabla 30	Niveles de complemento C4 por grupo a lo largo del tiempo	92
Tabla 31	Número de leucocitos por grupo a lo largo del tiempo	93
Tabla 32	Número de hematíes por grupo a lo largo del tiempo	94

Tabla 33	Concentración de hemoglobina por grupo a lo largo del tiempo	95
Tabla 34	Niveles de hematocrito por grupo a lo largo del tiempo	96
Tabla 35	Volumen corpuscular medio por grupo a lo largo del tiempo	97
Tabla 36	Niveles de hemoglobina corpuscular media por grupo a lo largo del tiempo	98
Tabla 37	Concentración de hemoglobina corpuscular media por grupo	99
Tabla 38	Amplitud de distribución eritrocitaria por grupo a lo largo del tiempo	100
Tabla 39	Número de plaquetas por grupo a lo largo del tiempo	101
Tabla 40	Niveles de TGF- β 1 en leche materna por grupo a lo largo del tiempo	102
Tabla 41	Niveles de TGF- β 2 en leche materna por grupo a lo largo del tiempo	103
Tabla 42	Niveles de IL-8 en leche materna por grupo a lo largo del tiempo	104
Tabla 43	Niveles de IgA en leche materna por grupo a lo largo del tiempo	105
Tabla 44	Niveles de IL-10 en leche materna por grupo a lo largo del tiempo	106
Tabla 45	Niveles de IL-12 en leche materna por grupo a lo largo del tiempo	107
Tabla 46	Niveles de TNF- α en leche materna por grupo a lo largo del tiempo	108
Tabla 47	Niveles de IL-6 en leche materna por grupo a lo largo del tiempo	109
Tabla 48	Niveles de IL-1 β en leche materna por grupo a lo largo del tiempo	110
Tabla 49	Principales características basales de los niños por grupo	111
Tabla 50	Antropometría, uso de medicamentos y alimentación a los 2 meses por grupo	111
Tabla 51	Exploración física de los niños a los 2 meses por grupo	112
Tabla 52	Afecciones durante el período de 0 a 2 meses por grupo	113
Tabla 53	Antropometría, uso de medicamentos y alimentación a los 6 meses por grupo	113
Tabla 54	Exploración física de los niños a los 6 meses por grupo	114
Tabla 55	Afecciones durante el período de 0 a 2 meses por grupo	115
Tabla 56	Frecuencia de consumo de cereales y legumbres durante el embarazo	115
Tabla 57	Frecuencia de consumo de carnes, huevos y pescado durante el embarazo	116
Tabla 58	Frecuencia de consumo de verduras durante el embarazo	117
Tabla 59	Frecuencia de consumo de frutas durante el embarazo	117
Tabla 60	Frecuencia de consumo de lácteos durante el embarazo	118
Tabla 61	Frecuencia de consumo de grasas y aceites durante el embarazo	118
Tabla 62	Frecuencia de consumo de dulces durante el embarazo	119
Tabla 63	Frecuencia de consumo de bebidas durante el embarazo	119

Tabla 64	Frecuencia de consumo de salados durante el embarazo	120
Tabla 65	Modificación del consumo de cereales y legumbres durante el embarazo	120
Tabla 66	Modificación del consumo de carnes, huevos y pescado durante el embarazo	121
Tabla 67	Modificación del consumo de frutas durante el embarazo	121
Tabla 68	Modificación del consumo de verduras durante el embarazo	122
Tabla 69	Modificación del consumo de lácteos durante el embarazo	122
Tabla 70	Modificación del consumo de dulces durante el embarazo	123
Tabla 71	Modificación del consumo de bebidas durante el embarazo	123
Tabla 72	Modificación del consumo de salados durante el embarazo	124
Tabla 73	Modificación del consumo de grasas y aceites durante el embarazo	124
Tabla 74	Consumo medio diario durante el embarazo de los distintos grupos de Alimentos	125
Tabla 75	Ingesta media diaria de energía y nutrientes	126
Tabla 76	Porcentaje de mujeres con ingesta inferior o superior a la ingesta recomendada de energía y nutrientes para la segunda mitad del embarazo en mujeres de 20 a 39 años	127
Tabla 77	Puntaje total y de cada componente del <i>Healthy Eating Index</i> en embarazadas sanas	128

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	Mecanismos de defensa en vertebrados	22
Figura 2	Principales componentes del sistema inmune	24
Figura 3	Diferentes células inmunocompetentes que participan en la respuesta inmune	25
Figura 4	Esquema general de la respuesta inmune	27
Figura 5	Análisis de linfocitos T (CD3+) secretores de INF- γ e IL-4	49
Figura 6	Esquema del estudio	59
Figura 7	Esquema de la inclusión y seguimiento de las participantes	62
Figura 8	Mediana del perfil Th1/Th2 en cada visita por grupo	70
Figura 9	Mediana del perfil Tc1/Tc2 en cada visita por grupo	71
Figura 10	Mediana del número de linfocitos T totales en cada visita por grupo	72
Figura 11	Mediana del número de linfocitos B en cada visita por grupo	73
Figura 12	Concentración media de células CD3/CD4 en cada visita por grupo	74
Figura 13	Concentración media de células CD3/CD8 en cada visita por grupo	75
Figura 14	Mediana del número de células NK en cada visita por grupo	76
Figura 15	Mediana del número de células NK T- <i>like</i> en cada visita por grupo	77
Figura 16	Mediana de la concentración de neutrófilos en cada visita por grupo	78
Figura 17	Concentración media de linfocitos en cada visita por grupo	79
Figura 18	Mediana de la concentración de monocitos en cada visita por grupo	80
Figura 19	Mediana de la concentración de eosinófilos en cada visita por grupo	81
Figura 20	Mediana de la concentración de basófilos en cada visita por grupo	82
Figura 21	Mediana de la concentración de inmunoglobulina G en cada visita por grupo	83
Figura 22	Concentración media de inmunoglobulina G1 en cada visita por grupo	84
Figura 23	Mediana de la concentración de inmunoglobulina G2 en cada visita por grupo	85
Figura 24	Mediana de la concentración de inmunoglobulina G3 en cada visita por grupo	86
Figura 25	Mediana de la concentración de inmunoglobulina G4 en cada visita por grupo	87
Figura 26	Concentración media de inmunoglobulina A en cada visita por grupo	88
Figura 27	Mediana de la concentración de inmunoglobulina M en cada visita por grupo	89
Figura 28	Mediana de la concentración de inmunoglobulina E en cada visita por grupo	90
Figura 29	Mediana de la concentración de Complemento C3 en cada visita por grupo	91
Figura 30	Mediana de la concentración de Complemento C4 en cada visita por grupo	92
Figura 31	Mediana del número de leucocitos en cada visita por grupo	93
Figura 32	Mediana del número de hematíes en cada visita por grupo	94

Figura 33	Mediana de la concentración de hemoglobina en cada visita por grupo	95
Figura 34	Nivel medio de hematocrito en cada visita por grupo	96
Figura 35	Mediana del volumen corpuscular medio en cada visita por grupo	97
Figura 36	Mediana de los niveles de hemoglobina corpuscular media en cada visita por grupo	98
Figura 37	Niveles medio de la concentración de hemoglobina corpuscular media en cada visita por grupo	99
Figura 38	Mediana de la amplitud de distribución eritrocitaria en cada visita por grupo	100
Figura 39	Mediana del número de plaquetas en cada visita por grupo	101
Figura 40	Mediana de la concentración de TGF- β 1 en leche materna en cada visita por grupo	102
Figura 41	Mediana de la concentración de TGF- β 2 en leche materna en cada visita por grupo	103
Figura 42	Mediana de la concentración de IL-8 en leche materna en cada visita por grupo	104
Figura 43	Mediana de la concentración de IgA en leche materna en cada visita por grupo	106
Figura 44	Distribución porcentual del consumo medio diario de los grupos de alimentos durante el embarazo	125
Figura 45	Distribución de la población según el <i>Healthy Eating Index</i> por grupos de edad	129
Figura 46	Tras una infección viral las células NK responden en los primeros día	133
Figura 47	Las células NK participan en la respuesta inmune innata mediante la lisis de células, este caso infectadas por virus, producción de citocinas, IFN- γ y quimiocinas	134
Figura 48	Componentes de la leche materna que pueden afectar el sistema inmune del recién nacido	137
Figura 49	Evolución de la lactancia materna hasta los 6 meses en la muestra y en Canarias	139
Figura 50	Acción de la IL-10 sobre las células Th	141
Figura 51	Acciones biológicas de la IL-1 sobre diferentes órganos del cuerpo humano	143

Abreviaturas

FOSHU	<i>Foods for Specified Health Use</i>
FUFOSE	<i>Functional Food Science in Europe</i>
ILSI	<i>International Life Sciences Institute</i>
PASSCLAIM	<i>Process for the Assessment of Scientific Support for Claims on Foods</i>
ATCC	<i>Americal Type Culture Collection</i>
BAL	Bacterias ácido-lácticas
IgA	Inmunoglobulina A
IgM	Inmunoglobulina M
IgG	Inmunoglobulina G
IgE	Inmunoglobulina E
IFN- α	Interferón alfa
IFN- γ	Interferón gama
IL-1 α	Interleucina-1 alfa
TNF- α	Factor de necrosis tumoral alfa
TGF- β 1	<i>Transforming growth factor beta 1</i>
TGF- β 2	<i>Transforming growth factor beta 2</i>
IL-6	Interleucina-6
IL-2	Interleucina-2
IL-5	Interleucina-5
IL-6	Interleucina-6
IL-8	Interleucina-8
IL-10	Interleucina-10
IL-12	Interleucina-12
NK	<i>Natural Killer</i>

BCR	Receptor del linfocito B
TCR	Receptor del linfocito T
APC	Células presentadoras de antígenos
HLA	Complejo mayor de histocompatibilidad
MALT	<i>Mucosal associated lymphoid tissue</i>
BALT	<i>Bronchial associated lymphoid tissue</i>
GALT	<i>Bronchial associated lymphoid tissue</i>
ADCC	<i>Antibody dependent cell cytotoxicity</i>
PMA	<i>Phorbol myristate acetate</i>
BFA	<i>Brefeldin-A</i>
PerCP	<i>Peridinin chlorophyll protein</i>
FITC	<i>Fluorescein isothiocyanate</i>
APC	<i>Allophycocyanin</i>
PE	<i>Phycoerythrin</i>
PBS	<i>Phosphate buffer solution</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
CBA	<i>Cytometric Bead Array</i>
VCM	Volumen corpuscular medio
HCM	Hemoglobina corpuscular media
CHCM	Concentración de hemoglobina corpuscular media
ADE	Amplitud de distribución eritrocitaria
USDA	Departamento de Agricultura de Estados Unidos
HEI	<i>Healthy Eating Index</i>
IMC	Índice de masa corporal

Ag	Antígeno
Th1	Linfocito T <i>helper</i> tipo 1
Th2	Linfocito T <i>helper</i> tipo 2
Tc1	Linfocito T citotóxico tipo 1
Tc2	Linfocito T citotóxico tipo 2
mRNA	Ácido ribonucleico mensajero
Igs	Inmunoglobulinas
Fc	Fragmento cristalizante de una molécula de inmunoglobulina
RR	Riesgo Relativo
IC	Intervalo de confianza

1. Introducción

1.1. ALIMENTOS FUNCIONALES

La definición del *International Life Science Institute* en 1999, establece que un alimento puede ser considerado funcional si se ha demostrado de forma satisfactoria que posee un efecto beneficioso sobre una o varias funciones específicas en el organismo, más allá de los efectos nutricionales habituales, siendo éste relevante para la mejora de la salud y el bienestar y/o la reducción del riesgo de enfermar. Los alimentos funcionales, en la medida en que implican nuevos nutrientes o proporciones diferentes de los mismos, pueden considerarse nuevos alimentos, según la clasificación establecida por la Unión Europea y por el Comité Científico de la Alimentación Humana¹.

Los alimentos funcionales como tal, tienen que tener unas características determinadas²:

- ✓ Tienen que ser alimentos que se manipulen para conseguir algún beneficio extra, por eliminación, reducción o adición de algún componente.
- ✓ Los alimentos funcionales son básicamente alimentos “clásicos” pero llevan incorporados nuevos componentes alimentarios o no alimentarios, siempre que tengan un claro efecto beneficioso.
- ✓ La base de la alimentación es una alimentación completa y variada. Los alimentos funcionales complementan la función nutritiva y la prevención de ciertas enfermedades. Hay que tener en cuenta que las cantidades deben ser las normalmente consumidas en la dieta.
- ✓ La presentación de un alimento funcional tiene que ser como la de un alimento, sin modificar sus características. Nunca deben presentarse en forma de cápsulas o comprimidos.

Un alimento funcional puede ser un alimento natural, un alimento al que se añade un componente, o un alimento al que se le ha quitado un componente mediante medios tecnológicos o biológicos. También puede tratarse de un alimento en el que se ha modificado la

naturaleza de uno o más de sus componentes, o en el que se ha modificado la biodisponibilidad de uno o más de sus componentes, o cualquier combinación de estas posibilidades.

Los alimentos funcionales tienen como objetivo modificar o potenciar las “propiedades saludables” de alguno de sus componentes. Según el concepto tradicional de nutrición, la principal función de la dieta es aportar los nutrientes necesarios para el buen funcionamiento del organismo. Este concepto de “nutrición adecuada” se está sustituyendo por el concepto de “nutrición óptima”, que se trata de aquella que además, contempla la posibilidad de que algunos alimentos mejoren nuestra salud y contribuyan a prevenir determinadas enfermedades^{3,4}.

Precisamente por este planteamiento aparecen los alimentos funcionales, cuyo desarrollo se basa en la relación entre dieta y salud⁵. Se ha demostrado que existe una gran variedad de micro-componentes de la dieta que pueden influir en la capacidad de un individuo para alcanzar todo su potencial genético y minimizar el riesgo de enfermar. La respuesta del organismo ante el consumo de un alimento funcional depende de diversos factores incluyendo los genéticos, el estado fisiológico y la composición de la dieta completa. Un alimento funcional puede ir dirigido a toda la población o a grupos concretos como los referidos a la edad, constitución genética o situación fisiológica^{3,4}.

1.1.1. Regulación de las alegaciones de salud²

Para que los alimentos funcionales puedan aportar todos los beneficios posibles para la salud pública, los consumidores tienen que comprender bien y confiar en los criterios científicos utilizados para documentar sus efectos y atribuciones beneficiosas. En tal sentido, es necesario un marco regulador que proteja a los consumidores de las atribuciones de propiedades falsas o confusas, y que además pudiera responder a las necesidades de la industria en cuanto a innovación en el desarrollo de productos, su comercialización y su promoción.

Japón está por delante del resto del mundo en este aspecto. En 1991, se estableció el concepto de “Alimentos para Uso Específico en la Salud” (*Foods for Specified Health Use*, FOSHU)⁶. Los alimentos que se incluyan dentro de la categoría de FOSHU deben ser autorizados por el ministro de Salud, tras la presentación de pruebas exhaustivas con fundamento científico, que apoyen la alegación relativa a las propiedades de dichos alimentos, cuando son consumidos como parte de una dieta ordinaria.

En la Unión Europea, la propuesta de reglamento comunitario, presentada por la Comisión Europea a mediados del 2003 (2003/0165(COD)) y todavía pendiente de aprobación, pretende proteger adecuadamente los derechos fundamentales del consumidor y otorgar seguridad jurídica a las empresas alimentarias sobre las alegaciones a utilizar en el etiquetado, presentación y publicidad de los productos². En tal sentido, las alegaciones de salud deben estar adecuadamente corroboradas para proteger al consumidor, fomentar el comercio justo y potenciar las investigaciones y la innovación en la industria alimentaria.

Debido al creciente interés en el concepto de los “Alimentos Funcionales” y en las “Alegaciones de Salud”, la Unión Europea ha creado una Comisión Europea de Acción Concertada sobre Alimentación Funcional en Europa (*Functional Food Science in Europe*, FUFOSÉ)⁷. El programa ha sido coordinado por el Instituto Internacional de Ciencias Biológicas (*International Life Sciences Institute Europe*) y su objetivo es desarrollar y establecer un enfoque científico sobre las pruebas que se necesitan para respaldar el desarrollo de productos alimenticios que puedan tener un efecto beneficioso sobre una función fisiológica del cuerpo y mejorar el estado de salud y bienestar de un individuo y/o reducir el riesgo de que desarrolle enfermedades.

La acción concertada de la UE apoya el desarrollo de dos tipos de alegaciones de salud con respecto a los alimentos funcionales⁸, que deben ser siempre válidas en el contexto de la dieta global y estar asociadas a los alimentos que se consumen normalmente:

1. **Tipo A:** alegaciones de “funcionales de mejora” asociadas a determinadas funciones fisiológicas y psicológicas y a actividades biológicas que van más allá de su papel establecido en el crecimiento, el desarrollo y otras funciones normales del cuerpo. Este tipo de alegación no hace referencia a enfermedades o estados patológicos (p. ej. algunos oligosacáridos no digeribles mejoran el crecimiento de la flora bacteriana intestinal; la cafeína puede mejorar el rendimiento cognitivo).
2. **Tipo B:** alegaciones de “reducción de riesgo de enfermedades”, que se asocian al consumo de un alimento o de sus componentes para ayudar a reducir el riesgo de padecer una determinada enfermedad o afección, gracias a los nutrientes específicos que contenga o no dicho alimento (p. ej. los folatos pueden reducir el riesgo de que una

mujer tenga un hijo con defectos del tubo neural, y una ingesta adecuada de calcio puede ayudar a reducir el riesgo posterior de osteoporosis).

Para poner en práctica las conclusiones y principios del programa FUFOSÉ, se creó un nuevo programa de Acción Concertada de la Comisión Europea, el Proceso para la Valoración de Soporte Científico de las Alegaciones con respecto a los Alimentos "*Process for the Assessment of Scientific Support for Claims on Foods*", (PASSCLAIM)⁹, que tiene como objetivo resolver los temas relativos a validación y verificación científica de alegaciones y la información al consumidor.

1.1.2. Probióticos

Dentro del campo de los alimentos funcionales, existe un grupo denominado probióticos. El campo de probióticos es un amplio sector que comprende toda una serie de alimentos fermentados muy extendidos en otras culturas, obtenidos no sólo a partir de leche sino de otros productos, especialmente de cereales. En este grupo también incluyen preparados farmacéuticos¹⁰. Los probióticos han entrado en el capítulo de los alimentos funcionales por cumplir acciones diana sobre órganos y sistemas, sin limitarse a la actividad puramente nutricional de sus contenidos. Los géneros bacterianos más utilizados como probióticos son los *lactobacillus* y *bifidobacterias*, siendo las bacterias ácido-lácticas (BAL) las que más se usan para este fin.

Elie Metchnikoff, premio Nobel de medicina, propuso ya a principios del siglo XX que el consumo de bacterias no patógenas era beneficioso para la salud y el bienestar del hombre¹¹. En la actualidad existe una amplia literatura sobre la acción saludable que ejercen las BAL y los productos obtenidos a partir de su fermentación¹²⁻¹⁶. Estos efectos son debidos no sólo a sus propiedades nutricionales y su influencia sobre el medio gastrointestinal¹⁷, sino también a su acción sobre el sistema inmune¹⁸⁻²⁰.

Con frecuencia se han citado en la bibliografía ciertas propiedades inmunomoduladoras de las BAL, con efecto tanto sobre la inmunidad de la mucosa como a nivel sistémico. Se han llevado a cabo estudios tanto "*in vivo*" como "*in vitro*" con leches fermentadas con distintos tipos de BAL, donde se han demostrado modificaciones en diversos parámetros

inmunológicos, como la concentración de macrófagos, anticuerpos, interferón (IFN) y otras citocinas, o en la activación de la fagocitosis (Tablas 1 y 2).

Tabla1. Modulación de la respuesta humoral por bacterias ácido-lácticas

BAL	INMUNIDAD HUMORAL aumento de:
<i>B. bifidum</i> , <i>L. acidophilus</i>	Células B en sangre periférica ²¹
<i>B. breve</i>	Proliferación de células B en placas de Peyer ²² IgG(virus/gripe) ²³ , IgA(rotavirus) ²⁴
Yogur, <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>B. longum</i> +mezcla BALs	IgG, IgA
<i>L. GG</i>	IgA(rotavirus) ²⁵ , IgM (rotavirus) ²⁶
<i>L. acidophilus</i> +bifidobacterias	IgA ²⁷ , IgA (<i>S. tymphimurium</i>)
Leche fermentada con <i>L. casei</i>	IgA (<i>S. tymphimurium</i>)

Tabla2. Modulación de la secreción de citocinas por bacterias ácido-lácticas

BAL	CITOCINAS aumento de:
<i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> y bifidobacterias	IL -1 α , TNF- α , IFN- γ
<i>S. thermophilus</i> , lactobacilos y <i>bifidobacterias</i> + LPS	IL-6, TNF- α , IL-2, IL-5 ²⁸
<i>L. acidophilus</i> Ke-10	IL-2 ²⁹
<i>L. bulgaricus</i> + <i>S. thermophilus</i>	IFN- γ ³⁰
<i>L. acidophilus</i>	IFN- α , IL-1 α , TNF- α ³¹
<i>L. helveticus</i>	IFN- γ , IL-2 ³²
<i>L. brevis</i> sbsp. <i>Coagulans</i>	IFN- α ³³
<i>Bifidobacterium lactis</i> (HN019)	IFN- α ³⁴

Las BAL son capaces de proporcionar una barrera natural al organismo al poseer un efecto inhibitorio frente a bacterias patógenas sin afectar a las saprófitas logrando una mayor resistencia a enfermedades infecciosas³⁵. También se ha demostrado que las BAL producen los siguientes efectos beneficiosos: mejoría de la diarrea de etiología diversa³⁶, disminución de la intolerancia a la lactosa³⁷, menor prevalencia de alergias^{38,39}, efecto antiinflamatorio sobre la mucosa intestinal y actividad anticancerígena^{40,41}. En pediatría, los lactobacilos se utilizan en la

prevención y tratamiento de patologías diversas como diarreas de origen vírico y bacteriano, en los tratamientos con antibióticos y en la intolerancia a la lactosa⁴². Actualmente y debido a su carácter beneficioso de las BAL, se han estudiado diversos efectos sobre el organismo:

- ✓ Actividad inmunomoduladora regulando el sistema inmune específico y no específico^{12,13,16,43}.
- ✓ Mejora de la respuesta antibacteriana debido a la actividad antagonista contra patógenos. Al contribuir a restablecer el efecto barrera de la mucosa intestinal, reducen el sobrecrecimiento bacteriano y aumentan la resistencia a la colonización por microorganismos patógenos. No tan sólo evitan la aparición de la infección sino que también reducen la gravedad y la duración de la misma⁴⁴.
- ✓ Mejoría de los procesos diarreicos de cualquier etiología³⁶. En niños con diarreas por rotavirus, la administración de *lactobacillus* consigue menor número de días con diarrea acuosa y una reconstitución total de la flora intestinal⁴⁵.
- ✓ Reducción de las alergias. La existencia de una microflora intestinal con una elevada proporción de *lactobacillus* y *bifidobacterias* se ha asociado con una menor prevalencia de alergias^{38,46}.
- ✓ Disminución de la intolerancia a la lactosa^{37,47}. Está demostrado que los individuos con deficiencia de lactasa digieren mejor la lactosa a partir del yogur que a partir de la leche. La mejor tolerancia a la lactosa no solamente puede explicarse por el hecho de que la fermentación láctica disminuye un 25% el contenido de lactosa de la leche sino que el probiótico tiene capacidad enzimática para suplir las deficiencias de lactosa del huésped.
- ✓ Efectos antiinflamatorios de la mucosa intestinal. La leche fermentada con *L. casei* ha demostrado en adultos sanos que disminuye la actividad de las enzimas β -glucuronidasa del colon, la ácidoreductasa glicolítica y la nitroreductasa. Un estudio reciente ha demostrado la disminución de la liberación de TNF- α en pacientes con síndrome de Crohn, lo cual evidencia el efecto antiinflamatorio de *L. casei* sobre la

mucosa intestinal, incrementando la respuesta inmunitaria del hospedador y protegiendo del desarrollo de cáncer de colon⁴⁸.

- ✓ Prevención de la incidencia de cáncer. El aumento en la proporción de linfocitos T, citoquinas, anticuerpos específicos IgA, células NK^{49,50}, células B plasmáticas, así como la disminución de la capacidad enzimática de la nitrorreductasa, capaz de estimular la fase procarcinógeno a carcinógeno, constituye una alta expectativa de protección frente al cáncer, hoy ampliamente estudiada entre los posibles beneficios de las BAL^{40,41}.

1.2. CONCEPTOS BÁSICOS DE LA RESPUESTA INMUNE⁵¹⁻⁵⁷

1.2.1. Concepto de respuesta inmune

Históricamente, inmunidad significa protección contra la enfermedad y, de forma más específica, frente a una enfermedad infecciosa. Las células y las moléculas responsables de la inmunidad forman el sistema inmunitario y la respuesta colectiva y coordinada frente a sustancias extrañas se denomina respuesta inmunitaria.

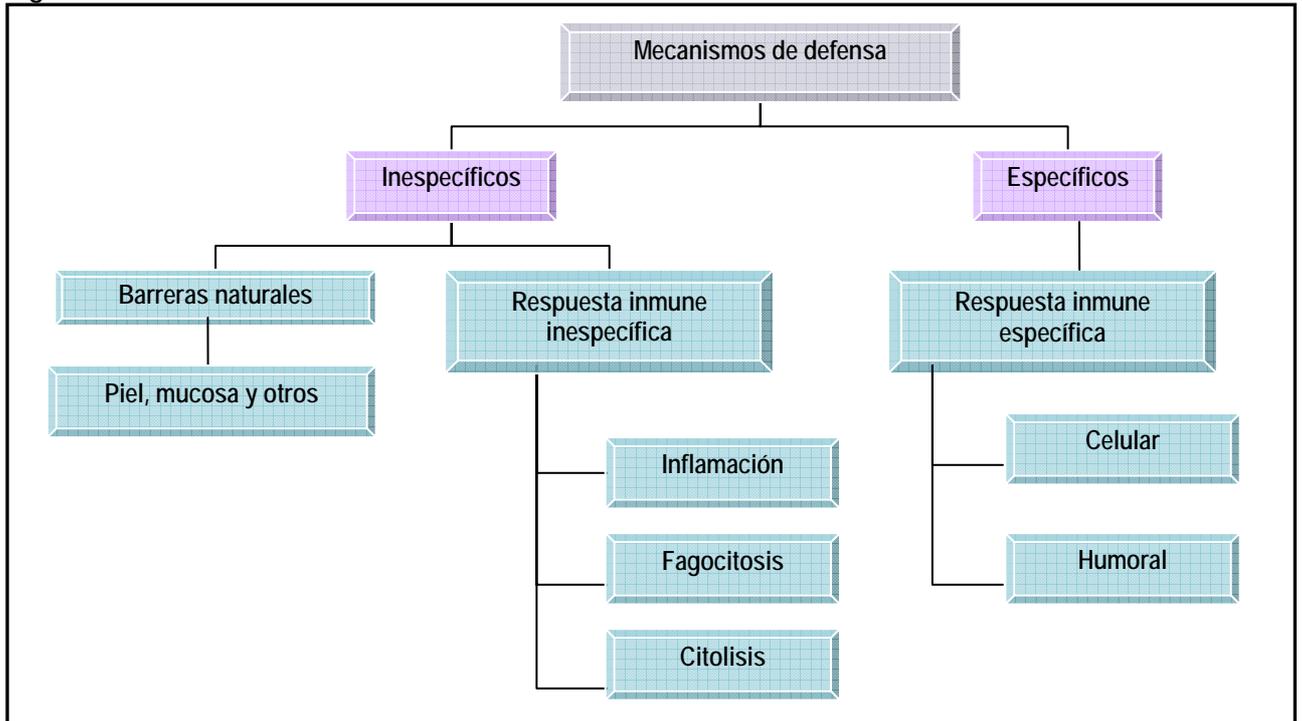
La función fisiológica del sistema inmunitario es la defensa contra microorganismos infecciosos. Sin embargo, las sustancias extrañas no infecciosas también pueden desencadenar respuestas inmunitarias.

1.2.2. Tipos de sistemas de defensa

En la escala animal aparece precozmente un conjunto de mecanismos (denominados sistemas de defensa naturales, inespecíficos o innatos) que pueden eliminar un gran número de antígenos. En los vertebrados aparecen nuevos sistemas de defensa que se solapan, complementan y utilizan los anteriores mecanismos. Estos “nuevos” sistemas de defensa (denominados sistemas adquiridos, adaptativos o específicos) están encargados de desarrollar una defensa más eficaz cualitativa y cuantitativamente, complementaria de la ejercida por los anteriores. El solapamiento entre ambos sistemas es tal que no pueden separarse de forma artificial (figura 1). Aunque posteriormente se señalarán las características comunes y las diferencias fundamentales entre los mecanismos de defensa inespecíficos y específicos,

podemos adelantar en este punto que la diferencia clave entre estos sistemas radica en la especificidad del reconocimiento antigénico y en la memoria inmunológica. En otros términos, los sistemas de defensa específicos son capaces de reaccionar frente a antígenos concretos, (estrictamente frente a ciertas regiones de los mismo), mientras que los sistemas de defensa naturales impiden la agresión de forma inespecífica. La figura 2 muestra los principales componentes del sistema inmune.

Figura 1. Mecanismos de defensa en vertebrados



Fuente: J Peña y A Caballero. Introducción a la Inmunología⁵⁸.

1.2.3. Componentes de la inmunidad innata o inespecífica

Los sistemas de defensa naturales pueden clasificarse de forma arbitraria en 3 grupos:

- ✓ Las barreras biológicas están formadas por elementos anatómicos, físicos y químicos que impiden el acceso de antígenos a regiones internas de los individuos. Se localizan en la piel y en las superficies mucosas que están en contacto con el medio ambiente (aparato digestivo, respiratorio y genitourinario). La inespecificidad de estos sistemas es total, evitando la entrada de sustancias extrañas de forma independiente a su naturaleza.

- ✓ El segundo grupo de elementos de defensa está formado por sustancias solubles, producidas tanto por células inmunológicas como no inmunes que ejercen su efecto sobre antígenos microbianos. Dentro de estas sustancias se incluyen la lisozima (que actúa sobre algunos tipos de bacterias), las proteínas del sistema complemento, las proteínas fijadoras de hierro (lactoferrina y transferrina) que, al limitar la cantidad de hierro, ejercen un efecto bacteriostático y los interferones antivirales que evitan la multiplicación viral. También se encuadran en este grupo los mediadores químicos liberados por los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos y las células del sistema mononuclear fagocítico.

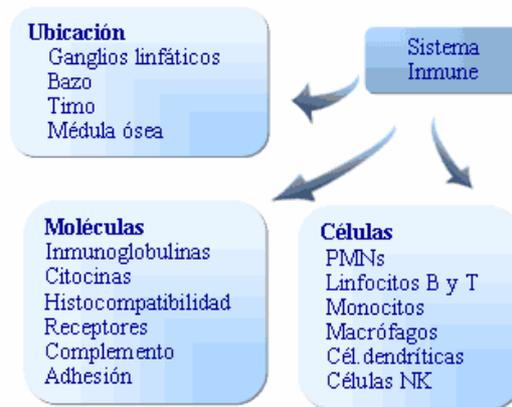
- ✓ Un tercer grupo de elementos de defensa naturales está formado por células capaces de destruir antígenos a través de diferentes mecanismos. Los tres tipos principales son las células “*natural killer*”, que destruyen células cargadas de virus y células tumorales, los polimorfonucleares neutrófilos y las células del sistema mononuclear fagocítico involucradas en las fases iniciales de la respuesta inflamatoria. De forma indirecta, otras células sanguíneas (polimorfonucleares eosinófilos y basófilos) también intervienen en la destrucción de algunos tipos específicos de antígenos. La acción directa de algunas células señaladas y de sus productos de secreción constituye la base de una estructurada respuesta corporal denominada inflamación. La figura 3 recoge los diferentes tipos celulares que pueden participar en la respuesta inmune.

1.2.4. Componentes de la inmunidad adquirida o específica

El sistema inmune no posee, en términos generales, un sustrato morfológico tan claramente establecido como otros sistemas corporales. Sin embargo, en términos cuantitativos, está formado por un número de células “nobles” similar al sistema nervioso central o al hígado. Las células que constituyen este sistema son los linfocitos T y los linfocitos B. Estas células poseen un rasgo peculiar dentro de la estructura del organismo ya que, a diferencia de otros tejidos, se originan y adquieren sus características funcionales (proceso denominado “maduración”) en órganos diferentes en los que ejercen su función. Los órganos encargados del origen y maduración de la mayor parte de las células inmunológicas se denominan órganos linfoides primarios o centrales y, en el ser humano, están representados por la médula ósea y el timo. En estos órganos se generan células inmunológicamente maduras, es decir, células

capaces de desencadenar una respuesta inmune. Para ello adquieren varias propiedades funcionales, en concreto la capacidad de producción de múltiples sustancias (p. ej. citocinas) y la expresión de varios tipos de moléculas que se expresan en su membrana. La diferencia fundamental entre ambos tipos de linfocitos no radica únicamente en su origen y maduración de estas células sino en la presencia de dos tipos de receptores para el antígeno: el receptor para

Figura 2. Principales componentes del sistema inmune



Fuente: J Peña y A Caballero. Introducción a la Inmunología⁵⁸.

antígenos de linfocitos B (BCR) y el receptor para el antígeno de la célula T (TCR). Debemos señalar en este momento que otra función esencial de los órganos linfoides centrales es el establecimiento de la tolerancia a antígenos propios.

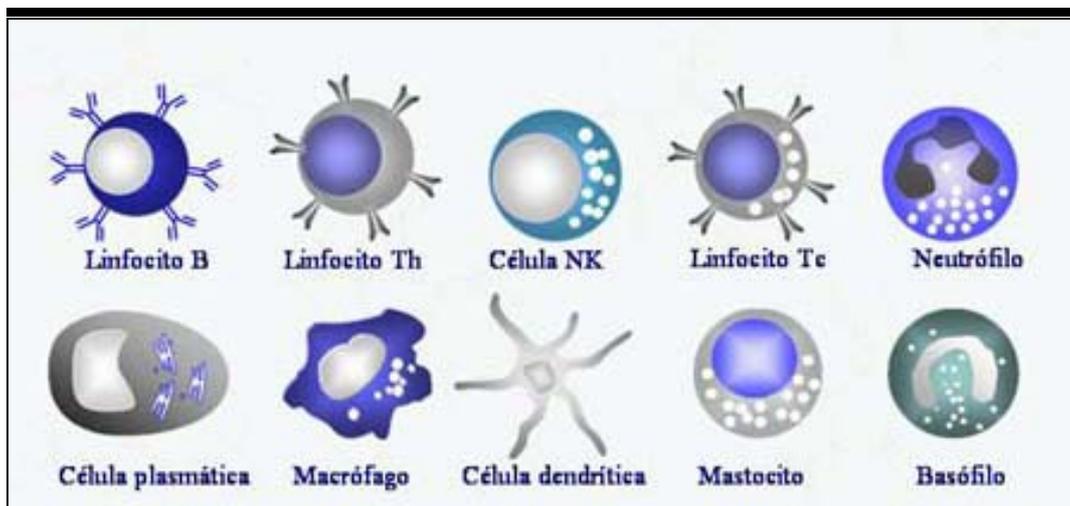
Además en la respuesta inmune específica, concretamente en el reconocimiento de antígenos por los linfocitos T, juegan un papel crucial las células presentadoras de antígenos (CPA). Las CPA son monolitos, macrófagos y células dendríticas principalmente, aunque los linfocitos B también pueden llevar a cabo esta función.

Los linfocitos T (LT), células que reciben esta denominación ya que maduran en el timo, son una población heterogénea. Atendiendo a la estructura del TCR se distinguen dos tipos de linfocitos T: linfocitos T (con TCR $\alpha\beta$), que constituyen la población más abundante y linfocitos T (con TCR $\gamma\delta$), que poseen una ontogenia (proceso evolutivo) y distribución tisular diferente. La presencia de dos moléculas accesorias (CD4 o CD8) permite dividir funcionalmente a grandes rasgos los LT en: linfocitos T CD4 (+) que poseen acciones colaboradoras y linfocitos T CD8 (+) que poseen acciones citotóxicas o supresoras. El estudio de la producción de

citocinas o la expresión de otras moléculas de membrana permite distinguir, a su vez, subvariedades de estas células. Los linfocitos T CD4 (+) reconocen antígenos en el contexto de moléculas de HLA clase II, expresadas principalmente en CPA y los linfocitos T CD8 (+) reconocen antígenos en el contexto de moléculas de HLA clase I.

En este momento tiene interés señalar dos tipos funcionales de linfocitos CD4, atendiendo a su patrón de producción de citocinas: los linfocitos T helper 1 (Th1), que se caracterizan por la producción de IL-2, interferón gamma (IFN- γ) y TNF- β , cuya función es estimular la inmunidad celulares (destrucción antigénica por los macrófagos o activación de células *natural killer*) y los linfocitos T helper 2 (Th2), productores de IL-4, IL-5 e IL-10, implicados principalmente en la activación de mecanismos de inmunidad humoral (síntesis de inmunoglobulinas). En general, se asume que ambos tipos proceden de células precursoras (linfocitos Tho) siendo el tipo de estímulo antigénico y la producción de citocinas por las células presentadoras los determinantes de la diferenciación hacia uno u otro tipo (IL-12 en el caso de los linfocitos Th1; IL-4 en el caso de los Th2). Por otro lado, la diferenciación hacia una u otra estirpe es mutuamente antagónica debida a la acción de las propias citocinas liberadas (IFN- γ inhibe el desarrollo de Th2 mientras que IL-10 inhibe el desarrollo de Th1).

Figura 3. Diferentes células inmunocompetentes que participan en la respuesta inmune



Fuente: J Peña y A Caballero. Introducción a la Inmunología⁵⁸.

Los linfocitos B (LB), células que maduran en la bolsa de Fabricio en aves y en la médula ósea en el ser humano, constituyen asimismo una población heterogénea.

Reciben el nombre de células presentadoras de antígenos (APC) diversos tipos celulares (células del sistema mononuclear fagocítico, linfocitos B, células dendríticas, células foliculares dendríticas, células de Langerhans) que poseen como característica común la capacidad para generar epítomos reconocibles por los linfocitos CD4.

Las células del sistema inmune específico están recirculando continuamente desde la sangre hacia los órganos linfoides secundarios o periféricos donde se desarrolla la respuesta inmunológica. Los principales órganos linfoides secundarios son los ganglios linfáticos, que constituyen el lugar de encuentro con el sistema inmune para los antígenos que viajan por vía linfoide, y el bazo, que constituye el lugar de encuentro con el sistema inmune para los antígenos que viajan por vía hemática. Aunque no posee características anatómicas de “órgano”, el sistema linfoide asociado a mucosa (MALT: *mucosal associated lymphoid tissue*) posee un significado biológico similar a los órganos linfoides secundarios clásicos. Debido a su importancia biológica, dentro del sistema linfoide asociado a mucosas adquieren especial relevancia el tejido linfoide asociado al árbol bronquial (BALT *bronchial associated lymphoid tissue*) y el tejido linfoide asociado al aparato digestivo (GALT *bronchial associated lymphoid tissue*).

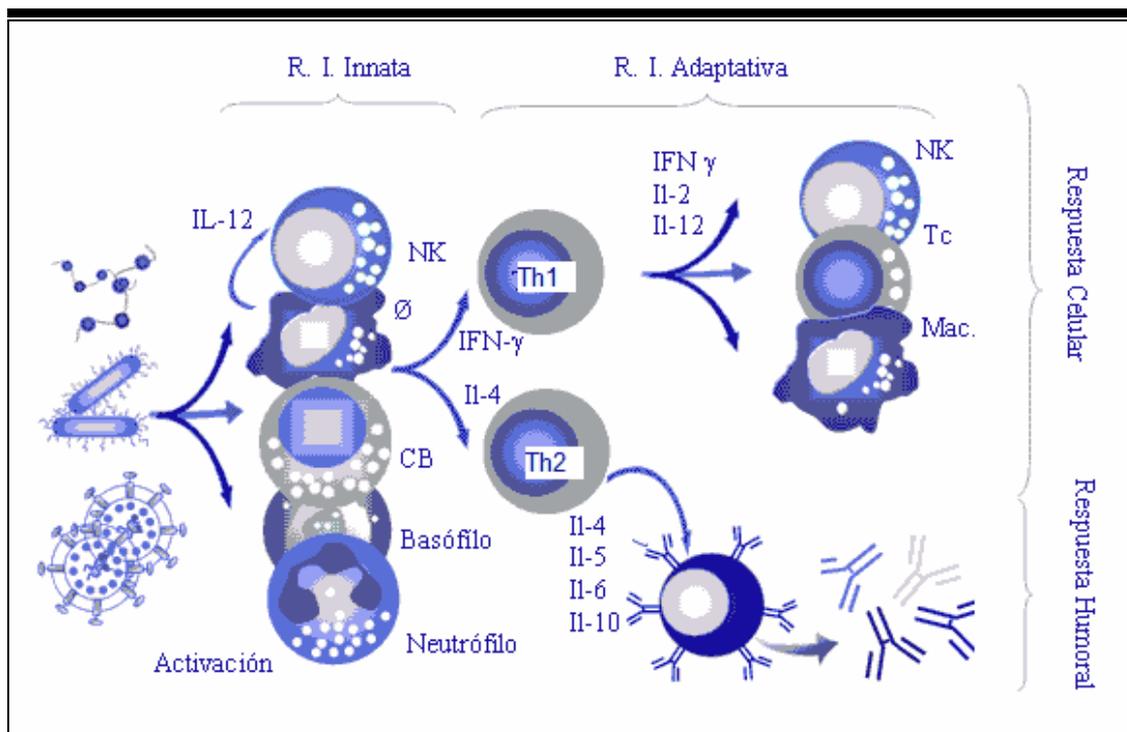
1.2.5. Respuesta inmune humoral y celular

Como hemos señalado previamente, muchos antígenos presentes en el medio ambiente no llegan a entrar en contacto con el sistema inmune debido a que son eliminados o controlados por los mecanismos de defensa inespecífica. Sin embargo, algunos antígenos sobrepasan estos sistemas naturales y entran en contacto con las células inmunes maduras presentes en estos tejidos linfoides secundarios. Como se ha señalado previamente, los antígenos interaccionarán con receptores específicos presentes en la superficie celular de las células inmunes. La interacción entre antígenos y células es un proceso complejo que lleva a la secreción secundaria de moléculas (citocinas) y cuyo efecto final es la activación, proliferación y diferenciación celular de los linfocitos. La consecuencia final de la estimulación de los linfocitos B es la generación de células plasmáticas que segregan inmunoglobulinas, capaces de reconocer el antígeno que puso en marcha la respuesta inmune. Por otro lado, la estimulación de los linfocitos T lleva a la proliferación de esta estirpe celular generándose, por lo tanto, múltiples células inmunocompetentes capaces de reconocer el antígeno. En la figura 4 se muestra un esquema con una visión general de la respuesta inmune.

1.2.6. Fases de marcaje y efectora de la respuesta inmune

La síntesis de inmunoglobulinas o la generación de células inmunocompetentes constituyen únicamente una fase de “marcaje” en la cual la sustancia extraña es señalada como tal o neutralizada pero, en general, no es capaz de producir directamente su destrucción. Las

Figura 4. Esquema general de la respuesta inmune



Fuente: J Peña y A Caballero. Introducción a la Inmunología⁵⁸.

inmunoglobulinas son glicoproteínas producidas por las células plasmáticas (que derivan de la diferenciación de los linfocitos B). Existen varios tipos (isotipos) de inmunoglobulinas que difieren en la naturaleza de sus cadenas pesadas (IgG, IgA, IgM, IgD e IgE) y ligeras (K λ). Desde un punto de vista funcional una inmunoglobulina consta de un fragmento Fab (en el que reside la capacidad de unión con el antígeno) y un fragmento Fc en el que residen las otras propiedades de estas sustancias (capacidad de activación del complemento, paso de la placenta, etc.). Para que la destrucción del antígeno tenga lugar es preciso que estos elementos colaboren con elementos de la inmunidad inespecífica: fase “efectora” de la inmunidad.

Si el antígeno ha sido reconocido mediante inmunoglobulinas, la respuesta efectora se produce habitualmente mediante la activación del sistema del complemento, mediante la

opsonización del mismo, es decir, por un incremento en la capacidad de ser reconocido y fagocitado por células fagocíticas. Por otro lado, si la respuesta es celular, la destrucción del antígeno se realizará bien por activación de los macrófagos (mediante citocinas Th1) que destruirán intracelularmente el antígeno, o bien mediante citotoxicidad. El concepto de citotoxicidad es simple; la destrucción de una célula por otra. En inmunología existen tres tipos principales de citotoxicidad:

- ✓ Citotoxicidad natural (ejercida por las células “*natural killer*”) que no requiere la participación de antígenos de histocompatibilidad ni la cooperación de anticuerpos.
- ✓ Citotoxicidad mediada por anticuerpos (ADCC: *antibody dependent cell cytotoxicity*). Este tipo de citotoxicidad requiere que la célula “extraña” sea marcada como tal mediante inmunoglobulinas. Las células que posean receptores para fracción Fc de las inmunoglobulinas destruirán la célula extraña. Este tipo de citotoxicidad no requiere la participación de antígenos de histocompatibilidad.
- ✓ Linfocitotoxicidad. Es ejercida por linfocitos T CD8 (+) reconoce antígenos en el contexto de moléculas de histocompatibilidad de clase I, elimina las células que presentan e inducen la lisis de la célula diana.

1.3. INMUNOLOGIA DEL EMBARAZO Y PUERPERIO

Clásicamente se ha admitido que el embrión, y posteriormente el feto, pueden considerarse como antígenos para los tejidos de la madre. Por ello, la respuesta inmunológica del hospedador debe “acomodar” este antígeno y por lo tanto modificarse con respecto a la mujer no embarazada⁵⁹. Por otro lado, hasta un 30% de las concepciones finaliza en un aborto espontáneo, de las cuales, en aproximadamente el 60% están implicadas alteraciones de la respuesta inmune⁶⁰. Las modificaciones de la respuesta inmune durante esta situación fisiológica son complejas y no totalmente conocidas⁵⁹⁻⁶¹. Además, es probable que las modificaciones inmunológicas sean diferentes en cada uno de los momentos del embarazo y parto. Así, aunque el paradigma vigente es el de un predominio de respuestas Th2 durante el embarazo normal⁵⁹,

parece emerger el concepto de la importancia de algunas citocinas Th1 (p. ej. IFN- γ) en las fases iniciales de implantación del embrión^{61,62}.

1.3.1. Equilibrio Th1/Th2 y embarazo

En general se admite que para el adecuado mantenimiento de un embarazo es precisa una modificación del equilibrio Th1/Th2 hacia un perfil Th2⁶³. Según esta interpretación, un predominio Th1 se asociaría a un aumento de abortos espontáneos⁶⁴.

Los datos en los que se basa esta interpretación son de tres tipos: (1) estudios realizados en sangre periférica (2) estudios realizados en tejido placentario/endometrio y (3) estudios experimentales en ratones gestantes.

1.3.1.1. Estudios descriptivos en sangre periférica

En diferentes trabajos se ha comprobado que en la sangre periférica de las mujeres embarazadas existe un predominio de respuestas Th2. Así, Kruse y col.⁶⁵ estudiaron la expresión de mRNA en linfocitos de sangre periférica de mujeres durante del embarazo y en el puerperio y lo compararon con los resultados obtenidos en mujeres no embarazadas. Estos autores observaron una relación IL-4/IFN- γ significativamente superior en el primer y segundo trimestre del embarazo con respecto a la relación hallada tanto en mujeres no embarazadas como en mujeres analizadas durante el puerperio.

Reinhard y cols.⁶⁶ estudiaron, mediante citometría de flujo, la expresión de linfocitos CD4 productores de IL-4 y de IFN- γ . Encontrando un aumento de los niveles de IL-4 y un descenso de los niveles de IFN- γ en mujeres embarazadas con respecto a mujeres no embarazadas.

Otros trabajos han evaluado las diferencias en la producción de citocinas entre mujeres con embarazos normales y en mujeres con abortos de repetición. En este sentido, Hill y col.⁶⁷ observaron que las células mononucleares sanguíneas de mujeres con abortos de repetición estimuladas con extractos trofoblásticos generaban IFN- γ , mientras que las de mujeres con embarazos normales producían preferentemente IL-10. Estos datos han sido corroborados por el grupo de Raghupathy⁶⁸⁻⁷⁰ que observó que las células mononucleares de sangre periférica

estimuladas con fitohemaglutinina en mujeres con embarazos normales producían citocinas Th2 mientras que en mujeres con abortos de repetición estaba aumentada la producción de citocinas Th1. Estos mismos resultados se obtuvieron en cocultivos de células mononucleares periféricas con tejido trofoblástico autólogo.

1.3.1.2. Estudios descriptivos locales

También varios grupos de trabajo han encontrado un incremento en la producción local de citocinas tipo Th2 en el útero gestante. Así, Hanna y col.⁷¹ encontraron un aumento de la IL-10 en la placenta a lo largo del embarazo normal. Por otro lado, tres grupos de trabajo⁷⁰⁻⁷⁴ han comprobado un predominio de citocinas Th2 en la decidua o endometrio de mujeres con embarazos normales mientras que en las mujeres con abortos de repetición se encontró un predominio local de citocinas Th1 (p. ej. IFN- γ , IL-12).

1.3.1.3. Estudios experimentales

La hipótesis de que el predominio de citocinas Th2 se asocia a un desarrollo normal del embarazo, mientras que el predominio de citocinas Th1 se asocia con pérdidas fetales, ha sido evaluada en dos tipos de modelos animales, desarrollados en ratones. Así, el grupo de Chaouat⁷⁵ demostró inicialmente que la administración de citocinas Th1 (TNF α , IFN- γ , IL-2) en el ratón inducía abortos mientras que la administración concomitante de anticuerpos anti TNF α evitaba este problema. Empleando el mismo modelo experimental, este grupo comprobó que la administración de IL-10 a ratones propensos al desarrollo de abortos disminuía las pérdidas fetales⁷⁶. Finalmente, Rivera y col.⁷⁷, en un modelo de aborto inducido por lipopolisacárido, encontraron que la administración de IL-10 minimizaba las pérdidas fetales.

Una vez descritos los datos en los que se sustenta el paradigma Th1/Th2 durante el embarazo, es preciso conocer los mecanismos por los que el predominio Th1 se asocia a pérdidas fetales y, por otro lado, los mecanismos por los que se establece la modificación del equilibrio Th1/Th2 durante el embarazo.

Aunque se desconocen exactamente los mecanismos por los que las citocinas Th1 se asocian a las pérdidas fetales, se han descrito tres tipos de efectos⁷⁸⁻⁸⁰: (a) inhibición del

crecimiento trofoblástico, (b) estimulación de la apoptosis y (c) producción de protrombinasa, que desencadena una acción procoagulante con obstrucción vascular.

Finalmente, entre los factores implicados en la modificación del equilibrio Th1/Th2 desempeñan un papel importante las hormonas responsables del mantenimiento del embarazo. Así, la progesterona y los glucocorticoides ocasionan una inhibición directa e indirecta de los linfocitos Th1⁸¹. Por el contrario, la relaxina ejerce un efecto contrario, estimulando el desarrollo de los linfocitos Th1⁸².

1.3.2. Modificaciones inmunológicas en el puerperio

Existen pocos datos acerca de las modificaciones de la respuesta inmune durante el puerperio. En general se ha observado que se restablece el equilibrio Th1/Th2^{65,83}, habiéndose detectado también un descenso de los linfocitos B (CD19 positivos) en relación con la lactancia materna y, específicamente, con los niveles de prolactina^{84,85}. Un aspecto importante en la respuesta inmune durante el puerperio es la dependencia de un adecuado estado nutricional⁸⁶.

1.4. NUTRICIÓN, EMBARAZO E INMUNIDAD

El embarazo junto con la lactancia constituye probablemente los mayores esfuerzos fisiológicos y conllevan los cambios más importantes de los procesos biológicos normales de la mujer en el curso de su vida. A lo largo del embarazo, la mujer gestante incrementa sus necesidades energéticas, de proteínas⁸⁷ y de la mayor parte de minerales^{88,89} y vitaminas⁹⁰. Durante este periodo deben ser cubiertas las necesidades del feto por su crecimiento con formación de nuevos tejidos⁹¹, así como para mantener sus propias funciones fisiológicas⁹².

La interacción entre nutrición e inmunidad es un fenómeno apasionante y complejo, los alimentos en general y los nutrientes en particular, ejercen un papel importante en el desarrollo y preservación del sistema inmune; por ello cualquier desequilibrio nutricional afectará en alguna medida la competencia del sistema inmune⁹³⁻⁹⁶.

La vitamina A es esencial para el crecimiento y la diferenciación de una serie de células y tejidos. En particular durante el embarazo y en todo el período de lactancia, la vitamina A tiene

un papel importante en el desarrollo saludable del feto y del recién nacido⁹⁷. Frente a la deficiencia de vitamina A se ha observado defectos en la actividad fagocítica y deterioro de la función de las células T y B^{98,99}. La vitamina D regula el metabolismo del calcio y del fósforo. Promueve la absorción intestinal de ambos y es probable que influya directamente en la mineralización ósea. Varios estudios observacionales sugieren un papel de deficiencia de vitamina D en diversas infecciones respiratorias incluida la tuberculosis y, en menor medida, en la neumonía¹⁰⁰. En relación a la vitamina E se ha podido demostrar que la deficiencia de este nutriente está asociada con una respuesta inmune deteriorada¹⁰¹, produciéndose alteraciones en la inmunidad humoral, la inmunidad celular y la función fagocítica. La vitamina E tiene un efecto protector frente a las infecciones, ya que estimula la producción de inmunoglobulinas y aumenta la respuesta al test de hipersensibilidad retardada, mejorando la función inmune humoral y celular¹⁰². Por otro lado, el ácido ascórbico actúa en el sistema inmune incrementando la capacidad proliferativa de los linfocitos T¹⁰³, con una consecuente menor incidencia de infecciones¹⁰⁴.

La deficiencia de B6 causa atrofia linfoide y alteración en la respuesta humoral y celular, además, la deficiencia de esta vitamina origina un defecto en la síntesis de los ácidos nucleicos y en la proliferación celular, particularmente de las células inmunocompetentes, defectos en la maduración y en la proliferación de los linfocitos T, anergia en el test de hipersensibilidad retardada, alteración de la citotoxicidad mediada por las células T y disminución de la producción de IL-2. Sobre la inmunidad humoral, este déficit implica una reducción de la formación de anticuerpos después de la inmunización¹⁰⁵. A medida que el embarazo evoluciona, la mujer tiende a excretar menos riboflavina (vitamina B2) y a necesitar más de esta vitamina que las mujeres no grávidas que siguen dietas similares. La deficiencia de ácido fólico es común durante el embarazo, y la anemia megaloblástica ocurre frecuentemente en este estado. El ácido fólico se encuentra en todas las células y sus requerimientos dependen de la velocidad metabólica y del recambio celular. En consecuencia, las necesidades aumentan durante el embarazo debido a las demandas de la eritropoyesis materna y al crecimiento fetal y placentario. La vitamina B12 es esencial para la síntesis de ácidos nucleicos. Su carencia origina una disminución en la proliferación de los linfocitos en respuesta a mitógenos, una reducción de la actividad de las células NK y un descenso en el número de linfocitos, en especial de linfocitos CD8⁺, por lo que el cociente CD4/CD8 aumenta¹⁰⁶.

En relación al calcio observamos que las necesidades de este mineral se acentúan en los últimos meses del embarazo, al comenzar la calcificación ósea fetal. Con el consumo de derivados lácteos y sobre todo de la leche se puede satisfacer fácilmente la necesidad de calcio. Durante el embarazo las necesidades de hierro están considerablemente aumentadas. Los aportes de hierro aconsejados para las mujeres en edad reproductiva son de 15 mg/día y sobre ellos deben adicionarse otros 15 mg. dando un total de 30 mg. durante el embarazo. La anemia ferropénica se asocia a un riesgo de prematuridad y a un aumento de la morbilidad y mortalidad feto-materna, por lo cual en muchos casos no es suficiente el aporte proveniente de la ingesta dietética y es necesario utilizar suplementos. Su deficiencia conduce a una menor capacidad de fagocitosis, una disminución de la capacidad oxidativa, una baja respuesta de linfocitos a la estimulación con mitógenos, un descenso en el número y actividad de las células NK y una disminución a la respuesta al test de hipersensibilidad retardada¹⁰⁷.

El zinc es un mineral esencial para el ser humano debido a que su deficiencia ocasiona problemas de crecimiento, enfermedades autoinmunes, producción disminuida de IL-2 y deterioro cognitivo¹⁰⁸. Estudios experimentales en animales y en humanos muestran que la deficiencia materna de zinc puede causar infertilidad, retardo de crecimiento intrauterino o malformaciones¹⁰⁹. El zinc está ampliamente distribuido en los alimentos. Respecto al magnesio observamos que las necesidades de este mineral se encuentran incrementadas durante la gestación. Los alimentos de origen vegetal tales como los frutos secos, legumbres, cereales integrales y cacao tienen un elevado contenido en magnesio. En ratones con deficiencia de Mg se ha observado una activación de la respuesta inflamatoria, una secreción de citocinas proinflamatorias (IL-6 y TNF- α) y una activación de macrófagos, neutrófilos y células endoteliales. La deficiencia de Mg juega un papel importante en el proceso de envejecimiento y parece estar relacionada con una mayor vulnerabilidad frente a las enfermedades¹¹⁰. La deficiencia de yodo es particularmente importante en las mujeres embarazadas o las que están lactando a sus niños. Los hijos de madres con insuficiencia severa de yodo durante el embarazo pueden sufrir de retardo mental y problemas de crecimiento, de la audición y del habla¹¹¹. En zonas con una baja ingesta de yodo, generalmente acompañada por bajas ingestas de selenio y cobre, se observan múltiples anomalías en el sistema inmune. Por el contrario una ingesta excesiva de yodo se ha asociado a un aumento en el riesgo de padecer tiroiditis autoinmune¹¹².

En relación a la grasa dietética, se ha reconocido la importancia del consumo de ciertos tipos de grasa durante este período. Además de suministrar energía y vitaminas liposolubles, la

grasa dietética proporciona ácidos grasos esenciales. Las familias n-6 y n-3 de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, denominados omega-6 y omega-3 desempeñan funciones de importancia durante la gestación, la lactancia y la infancia, debido a que son constituyentes de los fosfolípidos de las membranas celulares y precursores de la síntesis de eicosanoides, los cuales tienen un rol importante en la transducción de la señal en la división celular y en muchos otros procesos fisiológicos^{113,114}. La gestación y la infancia, son períodos que se asocian a un rápido crecimiento y desarrollo tisular, por lo cual las necesidades de ácidos grasos esenciales de la mujer gestante y del feto, como también de los niños lactantes son elevadas. El feto depende de la transferencia placentaria de ácidos grasos esenciales¹¹⁵, que provienen de la dieta y de la movilización de los depósitos maternos¹¹⁶. Durante el tercer trimestre de la gestación, los requerimientos fetales de ácido araquidónico y de ácido docosahexaenoico son elevados debidos al crecimiento del tejido nervioso¹¹⁵.

1.4.1. Aplicaciones de los probióticos durante el puerperio y la lactancia

Dentro de los alimentos funcionales, un grupo específico de ellos, los probióticos, han sido estudiados con aplicaciones especiales durante el puerperio y la lactancia.

En tal sentido, en el año 2000, Isolauri y col.¹¹⁷ estudiaron el potencial efecto de los probióticos sobre la inflamación de tipo alérgica a temprana edad. Llevaron a cabo un estudio aleatorizado, doble ciego y controlado, trabajando con niños de una media de edad de 4,6 meses, que manifestaron eczema atópico durante el periodo de lactancia materna exclusiva. El grupo intervención fue suplementado con *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* durante 16 semanas. La extensión y la severidad del eczema atópico fueron evaluadas a los 2 y 6 meses, observándose una mejora en las condiciones de la piel en los niños que consumieron suplementación con probióticos. Los resultados proporcionan la primera demostración clínica de las modificaciones que cepas específicas de probióticos pueden producir en aspectos relacionados con la inflamación de tipo alérgica.

Rautava y col.¹¹⁸ publicaron en el 2002 un trabajo concordante con el estudio anterior. Diseñaron un ensayo aleatorizado, doble ciego, destinado a evaluar el potencial efecto preventivo de los probióticos frente a las alergias. Se estudiaron 62 pares de madres e hijos. Las madres tenían antecedentes de atopia y fueron aleatorizadas a recibir *Lactobacillus rhamnosus* o placebo durante 4 semanas anteriores al parto y durante el periodo de lactancia hasta los 3

meses del niño. El riesgo de desarrollar eczema atópico durante los primeros 2 años de vida en niños de madres que recibieron probióticos fue sensiblemente menor comparado con el riesgo en niños cuyas madres recibieron placebo (el 15% y el 47%, respectivamente; riesgo relativo (RR) de 0,32 (Intervalo de confianza al 95% (I.C. 95%): 0,12-0,85). Este trabajo concluyó que la administración de probióticos durante el embarazo y la lactancia ofrecía un modo efectivo y seguro de aumentar el potencial inmunoprotector de la leche materna y proporcionar la protección contra eczema atópico durante los primeros 2 años de vida.

En una línea diferente, Mastretta y col.¹¹⁹ intentaron determinar la eficacia del *Lactobacillus GG* y la lactancia en la prevención de las infecciones nosocomiales del *rotavirus*. El *rotavirus* es uno de los principales agentes etiológicos de las infecciones nosocomiales en niños, por tanto, es importante el desarrollo de medidas preventivas que eviten el desarrollo de la misma. La eficacia del *Lactobacillus GG* en el tratamiento de la infección del *rotavirus* está suficientemente estudiada, pero existe poca evidencia de su eficacia en la prevención de la infección. Para ello, efectuaron un estudio aleatorizado, doble ciego y controlado con 220 niños hospitalizados, con edades comprendidas entre 1 y 18 meses, los cuales recibieron *Lactobacillus GG* o placebo durante su estancia hospitalaria. Los resultados de este estudio no pudieron demostrar la eficacia de *Lactobacillus GG* en la prevención de la infección nosocomial por *rotavirus*, mientras que la lactancia materna mostró ser más efectiva.

En 2004, Schultz M y col.¹²⁰ publicaron un trabajo cuyo objetivo fue determinar si la administración oral de *Lactobacillus* a la mujer embarazada conducía a la colonización de la mucosa intestinal del recién nacido. El aparato gastrointestinal de un feto sano es estéril. Durante el proceso del nacimiento, los microorganismos de la madre y el ambiente colonizan el tracto gastrointestinal del recién nacido formando una compleja microflora. Las bacterias probióticas han demostrado tener una influencia beneficiosa en la inmunidad intestinal y la inmunidad sistémica mediando, de esta manera, en la protección contra las infecciones nosocomiales que afectan al recién nacido. Este trabajo demostró que la colonización temporal de la mucosa intestinal del recién nacido con *Lactobacillus* puede ser posible administrando probióticos a la madre embarazada antes del parto. La colonización es estable durante 6 meses.

Para evaluar el impacto de los probióticos y la lactancia materna en la microflora intestinal del niño, Rinne y col.¹²¹ realizaron también un ensayo doble ciego, aleatorizado y controlado, en el cual estudiaron a 96 pares de madres e hijos. Las madres aleatorizadas al

grupo intervención recibieron probióticos durante las 4 semanas anteriores al parto y la intervención se mantuvo hasta los 6 meses posteriores al parto. Los resultados de este estudio sugirieron que la incorporación de probióticos en la dieta de la madre antes del parto y durante la lactancia puede influenciar positivamente el proceso de maduración de la inmunidad intestinal del niño.

Los alimentos funcionales, consumidos como parte de una dieta equilibrada y acompañados de un estilo de vida saludable, ofrecen la posibilidad de mejorar la salud y/o prevenir ciertas enfermedades. En el caso de los probióticos, y su aplicación durante el puerperio y la lactancia, existe evidencia que indica que pueden influenciar positivamente el proceso de maduración de la inmunidad intestinal del niño. De esta manera, se ha puesto de manifiesto su el potencial efecto preventivo de los probióticos frente a las atopias.

1.5. EFECTOS INMUNOLÓGICOS DEL *LACTOBACILLUS CASEI*

Las cepas de *Lactobacillus casei*, utilizadas para producir leches fermentadas, se usan en Japón desde los años 30, gracias a su capacidad de adhesión y persistencia en el tracto gastrointestinal. El nombre de *L. casei* fue dado en 1.919 y su nomenclatura está relacionada con el queso (casei y caseína son originarias del latín *caseus*, que significa queso).

ACTIMEL® es una leche fermentada que contiene *Lactobacillus bulgaris* y *Streptococcus thermophilus*, los dos cultivos característicos del yogur, conocidos por sus efectos beneficiosos contra la intolerancia a la lactosa. Además de estos dos *lactobacillus*, esta leche contiene una cepa probiótica concreta, exclusiva para ACTIMEL®: *Lactobacillus casei* DN-114 001.

Los efectos biológicos de *Lactobacillus casei* sobre la mucosa y la flora intestinal son muy diversos^{122,123}. Sin embargo, el efecto sobre la respuesta inmune sistémica ha sido evaluado de forma muy incompleta. Dependiendo de la metodología empleada, la administración de esta bacteria o sus productos biológicos no modifica la respuesta inmune sistémica¹²⁴ o bien sólo estimula una respuestas inmunológica de tipo Th1. Así, la administración intrapleural de esta bacteria inducía la producción de varias citocinas como INF- γ , TNF- α e IL-1 disminuyendo el crecimiento de tumores en un modelo experimental murino¹²⁵. En otro abordaje experimental, la interacción de *L. casei* con esplenocitos murinos tanto *in vivo* como *in vitro*, estimuló

respuestas Th1 (producción de IL-12 e IFN- γ)¹²⁶. En otra serie de experimentos empleando modelos murinos, la administración oral de *L. casei* estimuló respuestas Th1 que protegieron al hospedador frente a virus de la influenza¹²⁷ o el nematodo *Trichinella spiralis*¹²⁸. Finalmente, en un estudio con un escaso número de individuos, la administración por vía oral de esta bacteria incrementaba la actividad de las células *natural killer*, lo que sugiere una modulación Th1¹²⁹.

Las investigaciones científicas hasta el momento sugieren lo siguiente:

- ✓ El *Lactobacillus casei* DN-114 001 sobrevive en el medio estomacal y duodenal, lo que supone que alcanza el colon vivo¹³⁰.
- ✓ El consumo de ACTIMEL® puede mejorar los diversos parámetros de las defensas naturales, cambiar la microflora colónica¹³¹, mejorar la calidad de la mucosa intestinal¹³² y modular algunos parámetros del sistema inmune específico y no específico¹³³.
- ✓ El consumo de ACTIMEL® supone una protección contra la infección de *S. typhimurium* en ratones¹³⁴.
- ✓ Las investigaciones han demostrado que el consumo de ACTIMEL® ejerce efectos positivos contra la diarrea aguda en niños de corta edad que acuden a guarderías infantiles. La leche fermentada que contiene *Lactobacillus casei* DN- 114 001 reduce la duración de la diarrea infantil¹³⁵⁻¹³⁸.

1.6. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Trabajos recientes han evaluado el efecto de las leches fermentadas sobre la modulación de la respuesta inmune^{139,140}. Por tanto, se han abierto grandes perspectivas de investigación que están permitiendo evaluar el beneficio de los alimentos funcionales en diversos grupos de población en circunstancias vitales diferentes (etapas de crecimiento, embarazo, menopausia, senectud, esfuerzo físico y deporte) y la repercusión sobre la modulación del sistema inmune.

La mujer embarazada sufre una serie de cambios inmunológicos sistémicos debidos fundamentalmente a la función endocrina y paracrina de diferentes hormonas y citocinas sintetizadas en el área placentaria, así como a las células y antígenos de origen fetal extravasados a la circulación materna. Los rasgos principales dentro de las modificaciones observadas durante el embarazo son: por un lado el aumento generalizado de la respuesta inmune innata. Por otro, un desvío de la respuesta inmune adquirida hacia la inducción de la respuesta humoral de tipo Th2 junto con un descenso o inhibición de la respuesta inmune celular o proinflamatoria de tipo Th1. Como consecuencia, y aunque no se pueda hablar de una situación de inmuno supresión durante el embarazo, existe mayor susceptibilidad a la generación de infecciones por patógenos intracelulares¹⁴¹.

En este sentido, la razón de ser de este estudio de intervención nutricional con *Lactobacillus casei* (ACTIMEL®) es la de evaluar la repercusión de ACTIMEL® sobre la modulación del sistema inmune en mujeres con parto reciente durante el período de lactancia.

2. Objetivos

2.1. OBJETIVO PRINCIPAL

Evaluar la influencia del consumo de probióticos (*Lactobacillus casei*) sobre el perfil Th1/Th2, mediante la determinación del porcentaje de linfocitos T productores de IFN- γ (como medida de la actividad Th1) y el porcentaje de linfocitos T productores IL-4 (como medida de la actividad Th2) en sangre materna, de mujeres con parto reciente durante el período de lactancia.

2.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- 2.2.1. Evaluar las modificaciones de citocinas en leche materna, en mujeres con parto reciente durante el período de lactancia.
- 2.2.2. Valorar el estado antropométrico y la aparición de episodios infecciosos en el lactante durante los 6 primeros meses de vida.
- 2.2.3. Valorar el estado nutricional de la madre durante el embarazo.

3. Material y métodos

3.1. TIPO DE ESTUDIO

Ensayo clínico controlado con grupo paralelos, aleatorizado y doble ciego. Es un estudio de intervención nutricional durante el puerperio. El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Complejo Hospitalario Universitario Materno-Infantil de Canarias con fecha junio de 2002.

3.2. TAMAÑO MUESTRAL

El *Lactobacillus casei* puede contribuir al aumento de la actividad Th1, y por tanto, mejorar la respuesta inmunológica en el puerperio. Con la finalidad de evaluar esta respuesta inmunológica, se diseñó un estudio con 2 grupos paralelos donde m mujeres en el puerperio fueron aleatorizadas a un grupo con *Lactobacillus casei* y otro, también de tamaño m, a un control. Al no conocerse la desviación típica el tamaño muestral se estimó a partir de una muestra piloto. El tamaño muestral se estimó para un test a una cola (unilateral), una confianza del 95% ($\alpha=0,05$), una potencia del 80% y para una diferencia del 20%, obteniéndose 47 mujeres por brazo experimental. Previendo una pérdida en el seguimiento del 10% se consideraron entonces 52 mujeres por grupo.

3.3. SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Las mujeres participantes del estudio fueron seleccionadas desde los Centros de Salud, donde las mujeres embarazadas asistieron a las charlas de preparación al parto. En dichas reuniones, se les presentó el estudio y se las invitó a participar. Aquellas mujeres que deseaban participar en el estudio fueron citadas en el Hospital Universitario Materno Infantil de Canarias, donde el obstetra del equipo de investigación realizó la entrevista de preselección evaluando el cumplimiento de los criterios de inclusión/exclusión. Las mujeres preseleccionadas para el estudio firmaron la hoja de consentimiento informado.

3.3.1. Criterios de inclusión

1. Se incluyeron en el estudio mujeres con buen estado de salud general, riesgo obstétrico bajo y parto normal.
2. Se incluyeron aquellas mujeres cuyo parto fue atendido en el Hospital Universitario Materno-Infantil de Gran Canaria, durante el período del estudio.
3. Se incluyeron en el estudio a las mujeres cuyo recién nacido presentó un buen estado de salud general.
4. Que fuera residentes en Gran Canaria después del parto.
5. Que estuvieran en predisposición de lactancia durante un período mayor o igual a 3 meses.
6. De edad igual o superior a 18 años e inferior a 35 años.
7. Que estuvieran en predisposición a consumir ACTIMEL® durante el período del estudio y no consumir yogur ni otra leche fermentada durante el desarrollo del estudio.

3.3.2. Criterios de exclusión

No se incluyeron en el estudio las mujeres que presentaron alguna de las características siguientes:

1. Embarazo de alto riesgo
2. Complicaciones graves durante el embarazo y el parto.
3. Partos gemelares o múltiples.
4. Anemias, si el nivel de hemoglobina era inferior a 10,5%.
5. Historia actual o previa de enfermedades infecciosas: vírica (seropositividad al HIV, enfermedad hepática activa, citomegalovirus, rubéola, herpes, varicela-zoster), bacterianas (listeriosis, paludismo, tuberculosis) e infección por protozoos (toxoplasmosis, paludismo).
6. Enfermedades sistémicas: cardiopatía, neumopatía, coagulopatías, enfermedades metabólicas y del sistema inmune.
7. Endocrinopatías: diabetes, disfunción tiroidea, trastornos hipofisarios, alteraciones de la suprarrenal.
8. Hipertensión arterial definida como presión arterial sistólica igual o superior a 160 mmHg y/o presión arterial diastólica igual o superior a 95 mmHg.
9. Disfunción hepática definida por valores séricos de ALT, AST > 1.5 x límite superior de la normalidad (ULN).

10. Afectación renal conocida, definida por creatinina sérica > 2x ULN.
11. Talla inferior a 145 cm y/o peso < 45Kg o > 90Kg.
12. Hábitos tóxicos: más de 10 cigarrillos diarios, alcoholismo, drogadicción.
13. Antecedentes de asma o alergias.
14. Antecedentes de síndrome de malabsorción o intolerancia a la lactosa.
15. Durante el período de lactancia usaron complejos vitamínicos no estandarizados en el estudio.

3.3.3. Aleatorización

Las mujeres fueron numeradas consecutivamente según el orden de entrada en el estudio. El producto del estudio fue asignado aleatoriamente a cada mujer que ingresó en el estudio. Para ello se realizó una lista de aleatorización estratificada dividida en cuatro subgrupos:

	Primíparas	Múltiparas
Edad	18-24	18-24
Edad	25-40	25-40

La lista de aleatorización fue generada por ordenador por una empresa independiente, *Biomedical Systems Group S.A.* (Barcelona). La lista elaborada por esta empresa incluía 500 participantes, lo cual ocasionó que los grupos tuvieran tamaños desiguales, dado que trabajamos con 104 mujeres. El investigador realizó el reclutamiento y seguimiento de las participantes, mientras que la aleatorización fue realizada por otro miembro del equipo.

Todas las participantes fueron identificadas con un código alfanumérico y los investigadores no tuvieron acceso a la secuencia de asignación hasta que la base de datos fue cerrada. En un sobre precintado para cada participante se mantuvieron los códigos de identificación para el caso de situaciones de emergencia, pero el ciego no fue abierto durante el estudio.

Las mujeres que abandonaron o fueron retiradas a lo largo del estudio, no podían ser reemplazadas. Las mujeres que sustituían a otra, recibieron siempre un número nuevo.

La aleatorización y almacenamiento de los productos del estudio se realizó en el laboratorio de Farmacología del Departamento de Ciencias Clínicas del Centro de Ciencias de la Salud.

3.3.4. Retirada de participantes del estudio

Las mujeres podían ser retiradas del estudio por las siguientes razones:

- ✓ Por petición propia o de su representante legal.
- ✓ Por decisión del investigador.
- ✓ Cuando no continuaron con la lactancia.

Se retiraron a las mujeres del estudio cuando dejaron de consumir más de 12 tomas seguidas de ACTIMEL® o placebo dentro de los 30 primeros días del estudio y/o más de 9 tomas seguidas dentro de los días 31 al 42 del estudio, documentado en el diario de la madre, aunque se tendrá en cuenta su evaluación por intención de tratar.

En todos los casos, las razones que motivaron la retirada fueron anotadas detalladamente en el cuaderno de registro de datos.

3.4. PRODUCTOS DEL ESTUDIO

La empresa DANONE S.A. envasó y proporcionó los productos del estudio. Los productos del estudio se almacenaron de acuerdo a las instrucciones del fabricante en el laboratorio de Farmacología donde se procedió a la aleatorización.

3.4.1. Producto a evaluar

ACTIMEL® es una leche fermentada que contiene tres cultivos de lactobacilos siguiendo los siguientes criterios:

- *Lactobacillus casei*, 10^8 /g de producto
- *Lactobacillus bulgaricus*, $5 \cdot 10^7$ /g de producto
- *Streptococcus thermophilus*, $5 \cdot 10^7$ /g de producto

El cultivo utilizado fue *L. casei* DN-114 001. El número internacional de identificación del cultivo fue *American Type Culture Collection* (ATCC) 334.

Composición nutricional por cada 100g y 100ml y lista de ingredientes:

ACTIMEL® natural por 100g

Energía	350KJ/83 Kcal
Proteínas	2,8g
Glúcido	14,3g
Lípidos	1,6g
Calcio	+/- 104mg (teórico)

ACTIMEL® natural por 100ml

Energía	371KJ/88Kcal
Proteínas	3,0g
Glúcidos	15,1g
Lípidos	1,7g
Calcio	110mg

Glúcidos:

% sacarosa: 9,7186g/100g

% dextrosa: 0,5815g/100g

Ingredientes: Leche con 0,5g/l de materia grasa., crema, jarabe de azúcar, leche concentrada/polvo de leche descremada, dextrosa, fermentos de yogur, L. Casei.

3.4.2. Producto control

Con similar envase que el producto a evaluar, contenía los mismos componentes y las mismas características organolépticas que ACTIMEL®. El placebo fue el mismo producto utilizado en el grupo intervención pero sometido a irradiación beta. La irradiación beta no ionizante se ha realizado en la planta de tratamiento de la empresa ION+MED, y la dosis de irradiación ha sido de 4,5 KGy.

3.4.3. Pautas de administración

Las mujeres que cumplieron con los criterios de selección fueron aleatorizadas a recibir leche fermentada con *Lactobacillus casei* o placebo.

ACTIMEL® se administró por vía oral en tres tomas diarias, durante 6 semanas. La administración de ACTIMEL® o del placebo comenzó el día siguiente a la primera extracción de sangre y de calostro que se realizará dentro de las 72hs posteriores al parto.

3.4.4. Tratamiento concomitante

Todos los tratamientos que estaban recibiendo las mujeres a su entrada en el estudio y todos los tratamientos adicionales administrados durante el ensayo, fueron considerados como tratamientos concomitantes y fueron documentados en las hojas de recogida de datos.

Los tratamientos concomitantes fueron los mínimos imprescindibles durante el estudio. Sin embargo, si se consideró que eran necesarios para el bienestar del paciente y que no interferían con el producto del estudio, podían ser administrados según criterio del obstetra encargado de la valoración de los criterios de inclusión/exclusión.

Precauciones:

Existía la posibilidad de que los antiácidos reduzcan la absorción de ACTIMEL® por lo cual debía tomarse con dos horas de separación respecto a la toma de antiácidos.

3.4.5. Medidas para valorar el cumplimiento

En cada visita del estudio se revisó el diario de la madre. En él, la participante registraba diariamente si tomó o no ACTIMEL® y, en caso de no tomarlo, el motivo del incumplimiento.

3.5. ANÁLISIS EN MUESTRAS DE SANGRE MATERNA

Se obtuvieron 3 muestras de sangre periférica: una a las 72 hs post-parto, otra a los 10 días y la última a los 45 días.

3.5.1. Análisis de células T secretoras de IFN- γ e IL-4

La determinación de los parámetros inmunológicos se realizó en el Laboratorio de Inmunología del Hospital de Gran Canaria Dr. Negrín bajo la dirección del Dr. Carlos Rodríguez Gallego.

Los cambios en el perfil inmunológico durante el puerperio fueron estudiados utilizando anticuerpos monoclonales conjugados y citometría de flujo. Las muestras de sangre periférica que fueron activadas se recogieron en tubos Vacutainer® con heparina de sodio (Becton Dickinson, Meylan-Cedex, Francia). Se analizaron los perfiles Th1/Th2 y Tc1/Tc2 en sangre, por técnica citométrica con la medición del porcentaje de células secretora de citocinas IFN- γ (como medida de la actividad Th1 y Tc1) e IL-4 (como medida de la actividad Th2 y Tc2). Para calcular el Th1/Th2 se determinó el porcentaje de células CD3+CD8- INF- γ (+) y el porcentaje de células CD3+CD8- IL-4 (+) y para calcular el Tc1/Tc2 se determinó el porcentaje de células CD3+CD8+ INF- γ (+) y el porcentaje de células CD3+CD8+ IL-4 (+).

Tabla 3. Protocolo para la detección de citocina intracelular

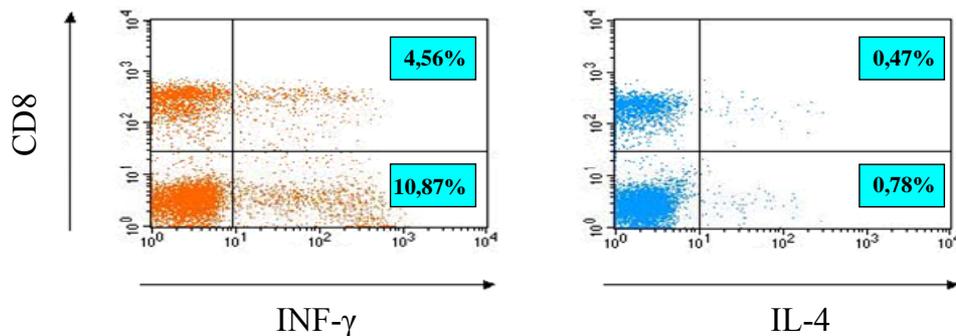
Activación de linfocitos con PMA e ionóforo de calcio
Incubar 4hs/ 37°C/ 5% CO ₂
Fraccionar en 8 alícuotas de 100 μ l
Marcaje extracelular (Incubar 15' / T.A. / Oscuridad)
Fijación (Incubar 15')
Agregar 3 ml solución de lavado, centrifugar 5' / 1500 rpm, decantar el sobrenadante.
Repetir el paso anterior
Permeabilización y marcaje intracelular (Incubar 15' / T.A. / Oscuridad)
Agregar 3 ml solución de lavado, centrifugar 5' / 1500 rpm, decantar el sobrenadante.
Repetir el paso anterior
Resuspender el sedimento y leer en citómetro de flujo

El protocolo utilizado para detectar citocina intracelular fue el siguiente: las muestras de sangre periférica fueron estimuladas en RPMI (RPMI-1640 Biochrom, Berlín, Alemania) con 10 ng/mL de phorbol myristate acetate (PMA; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) y 1 μ g/mL de ionomycin (Sigma Chemical Co.) en presencia de 10 μ g/mL de brefeldin-A (BFA; Sigma

Chemical Co.) durante 4 horas a 37°C y en una atmósfera de 5% de CO₂. Posteriormente se usaron los siguientes anticuerpos monoclonales conjugados para hacer el marcaje de superficie de los linfocitos: CD3-PerCP, CD8-FITC, CD45-APC (todos de Becton Dickinson, San José, CA, USA). Se mezcló la muestra suavemente y se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente en oscuridad. Para la fijación y permeabilización, se utilizó el reactivo Fix & Perm (FIX & PERM® Cell Permeabilization Kit, Caltag, Burlingame, CA, USA), siguiendo el protocolo de trabajo indicado por el fabricante. Luego se realizó el marcaje intracelular utilizando los siguientes monoclonales: FastImmune Anti-Human IFN- γ (IFN- γ -PE), FastImmune Anti-Human IL-4 (IL-4-PE) de Becton Dickinson (San Jose, CA, USA).

La fluorescencia fue analizada utilizando un citómetro FACSCalibur® (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA). Los datos se analizaron utilizando el software CellQuest (Apple Computer, Inc; Cupertino, CA, USA) y fueron expresados como porcentajes.

Figura 5. Análisis de linfocitos T (CD3⁺) secretores de INF- γ e IL-4 intracelular mediante citometría de flujo



Para evaluar las células T CD4, se analizaron las células T CD3⁺ CD8⁻, debido a que la molécula de CD4 se modula cuando son activadas con ionomicin y PMA. El número absoluto de células T productoras de INF- γ ⁺ y el número absoluto de células T productoras de IL-4⁺ en sangre periférica fue calculado multiplicando el número absoluto de células CD8⁻ o CD8⁺ por el porcentaje de cada célula secretora de citocinas.

3.5.2. Análisis de subpoblaciones linfocitarias y hemograma

La determinación de los parámetros hematológicos se realizó en el Laboratorio de Hematología del Hospital de Gran Canaria Dr. Negrín bajo la dirección de la Dra. Teresa Molero Labarta.

Se analizaron los siguientes parámetros en muestras de sangre periférica recogida con EDTA, utilizando un analizador hematológico automático Cell-Dyn 4000® (Abbott Diagnostics, Santa Clara, California, USA):

- ✓ **Serie eritrocitaria:** recuento de hematíes, determinaciones de hemoglobina, hematocrito e índices hemáticos: volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), y amplitud de distribución eritrocitaria (ADE). El VCM permite una orientación diagnóstica de la anemia ya que nos informa sobre el volumen de los eritrocitos, clasificándolos como normocíticos, microcíticos, si son menores de lo normal, y macrocíticos, si son mayores de lo normal. Se calcula dividiendo el hematocrito entre el número de eritrocitos y se expresa en femtolitros (fl); 1fL equivale a 10-15 litros. Si el VCM es <80 fl la anemia es microcítica y si es >100 fl es macrocítica; entre 80-100 fl es normocítica. La HCM es el valor medio del contenido de Hb por cada eritrocito y se determina dividiendo la concentración de Hb entre el número de eritrocitos. Los valores de referencia de esta variable están comprendidos entre 27 y 33 pg. La CHCM se obtiene de dividir la Hb entre el hematocrito; se expresa en g/dl y corresponde a la Hb por cada litro de sangre, sin tener en cuenta el plasma (solo eritrocitos). Los valores de referencia de esta variable están comprendidos entre 32 y 35 g/dl.

- ✓ **Serie leucocitaria:** recuento de leucocitos totales y su perfil mediante la determinación de la fórmula leucocitaria: recuento de linfocitos, monocitos, neutrófilos, eosinófilos y basófilos.

- ✓ **Serie trombocítica:** recuento de plaquetas.

- ✓ Las **subpoblaciones linfocitarias** estudiadas fueron las siguientes: linfocitos T totales (CD3+), linfocitos colaboradores (CD3+CD4+), linfocitos citotóxicos (CD3+CD8+), linfocitos B (CD19+), células NK (CD3-CD56+) células NK T-like (CD3+CD56+). Las muestras de sangre se recogieron con EDTA y se incubaron con la siguiente combinación de anticuerpos monoclonales: CD3FITC/CD8PE/CD45PerCP/CD4APC y CD3FITC/CD56PE/CD45PerCP/CD19APC (todos de Becton Dickinson, San Jose, CA, USA). Luego se incubaron durante 10 minutos a temperatura ambiente y oscuridad. Posteriormente se agregó la solución de lavado *phosphate buffer solution* (PBS; Sigma St Louis, MO, USA) y se analizaron en un citómetro (FACSort® de Becton Dickinson Biocienses, San Jose, CA, USA), utilizando el software Paint-a-gate (Becton Dickinson Biocienses, San Jose, CA, USA). El número absoluto de subpoblaciones linfocitarias en sangre periférica fue calculada multiplicando el número absoluto de células por el porcentaje de cada subpoblación linfocitaria.

3.5.3. Determinaciones de inmunoglobulinas y factores del sistema complemento

Estas determinaciones se realizaron en el Laboratorio de Bioquímica Hospital Universitario Insular de Gran Canaria bajo la dirección de la Dra. Adela Soria López.

Se analizaron los siguientes parámetros en muestras de suero de sangre periférica: factores del sistema complemento C3 y C4 e inmunoglobulinas: IgA, IgE, IgM, IgG y las subclases de IgG (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4). Todos los parámetros se analizaron por nefelometría (Nefelómetro Analizador Behring, Dade-Behring, Marburg, Alemania).

3.6. ANÁLISIS EN MUESTRAS DE LECHE MATERNA

3.6.1. Recolección y procesamiento

Se obtuvieron tres muestras de leche materna: calostro (dentro de las 72hs posteriores al parto, n=104), leche de transición (10 días post-parto, n=99) y leche madura (45 días post-parto, n=91). Las muestras de calostro se obtuvieron en el hospital. Las muestras de leche de

transición y leche madura se obtuvieron en el domicilio de las madres, utilizando un extractor de leche eléctrico.

Todas las muestras fueron recolectadas en tubos plásticos estériles y congeladas a -20°C hasta el momento del análisis. En el momento del análisis fueron descongeladas y se removió la capa de grasa y elementos celulares por medio de 2 centrifugaciones. El líquido translúcido obtenido se utilizó inmediatamente para la determinación de TGF- β y el resto fue dividido en alícuotas y almacenado en tubos plásticos estériles a -20°C.

Las muestras de calostro se obtuvieron en el Hospital Materno-Infantil de Gran Canaria mediante extracción manual dada las características del calostro. Las muestras de leche inicial y madura se obtuvieron con sacalaleche eléctrico marca Medela® y la extracción se realizó en el domicilio de las participantes.

3.6.2. Detección de citocinas e IgA

La valoración de la IgA se realizó en Laboratorio de Bioquímica Hospital Universitario Insular de Gran Canaria. El resto de los parámetros se analizaron en el Laboratorio de Inmunología del Hospital de Gran Canaria Dr. Negrín.

Las concentraciones de TGF- β 1 y TGF- β 2 de la fase acuosa de la leche materna fueron analizadas usando un kit comercial ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) de R&D (R&D Systems Inc., Minneapolis, MN) siguiendo el protocolo de trabajo provisto por el fabricante. Antes de la determinación de TGF- β 1, las muestras fueron tratadas con HCl 1N ajustando a pH3. Las muestras acidificadas fueron incubadas por 15 minutos a temperatura ambiente y neutralizadas con NaOH 1N e inmediatamente analizadas. Este tratamiento es necesario para transformar la forma TGF- β 1 latente in inmunoreactiva¹⁴².

El contenido de IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 (interleucina-10), IL-12 (interleucina-12) y TNF- α en la fase acuosa de la leche materna fue cuantificado por medio de un citómetro de flujo aplicando la técnica *Cytometric Bead Array* (CBA), usando el *kit Human Inflammation CBA* (Becton Dickinson Biocienses, San Diego, CA, USA). El mínimo de concentración detectable

con esta técnica para cada citocina fue: 1.90pg/mL (IL-12), 7.2 pg/mL (IL-1 β), 2.5 pg/mL (IL-6), 3.3 pg/mL (IL-10) y 3.7 pg/mL (TNF- α).

La concentración de IgA (inmunoglobulina A) fue determinada utilizando una técnica nefelométrica (Nefelómetro Analizador Behring, Dade-Behring, Marburg, Alemania).

3.7. SEGUIMIENTO DE LOS NIÑOS

La primera valoración del niño se realizó dentro de las 72 hs posteriores al parto, en el Hospital Universitario Materno-Infantil de Gran Canaria. Se completó una ficha pediátrica donde se recogieron las características antropométricas del recién nacido (peso, talla, perímetro cefálico, período neonatal, screening neonatal, apgar) y variables relacionadas con el parto.

El seguimiento de los niños (a los 2 y 6 meses de vida) se realizó en el Hospital Universitario Materno-Infantil de Gran Canaria por el Dr. Luís Peña Quintana y la Dra. Milagrosa Santana Hernández. En ambas visitas se completó una ficha pediátrica con la siguiente información:

- ✓ Antropometría: peso, talla, perímetro cefálico
- ✓ Uso de medicamentos y pomadas
- ✓ Exploración física
- ✓ Alimentación del niño: lactancia e introducción de alimentos
- ✓ Episodios infecciosos en cada período: respiratorios, gastrointestinales, alergia, infección urinaria, dermatitis, días con fiebre, días con antibióticos, días ingresado, número de consultas médicas domiciliarias, número de consultas médicas hospitalarias, número de consultas a urgencia.

3.8. VALORACIÓN NUTRICIONAL DE LA GESTANTE

3.8.1. Cuestionario de frecuencia de consumo

Para este estudio se administró el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos, validado previamente y utilizado en la Encuesta Nutricional de Canarias (ENCA)^{143,144}. El cuestionario fue administrado en el Hospital Universitario Materno-Infantil de Gran Canaria dentro de las 48 horas post-parto. Se realizó en una sola ocasión y se refería al consumo habitual de alimentos durante el embarazo. El cuestionario proporcionó información sobre el consumo de 84 alimentos (se añadieron 3 nuevos alimentos a los 81 contenidos en el cuestionario). Se le preguntó a las participantes cuántas veces y con qué frecuencia consumieron esos productos durante el embarazo, seleccionando una de las 5 categorías de frecuencia (desde “nunca” hasta “diario”). Las raciones utilizadas fueron raciones estándar (ej. 1 yogurt) o raciones habituales caseras (ej 1 vaso, 1 cucharada). La tabla de raciones estándar fue elaborada por dietistas locales en Gran Canaria utilizada en la ENCA^{143,144}. Para evaluar el consumo de diferentes alimentos, se consideraron agrupados en grupos de alimentos (cereales, carnes, pescados, etc).

3.8.2. Tabla de composición de alimentos

Se calculó el consumo medio diario de alimentos (g/día) y la ingesta media de nutrientes a través de las tablas de composición de alimentos españoles de Mataix y col.¹⁴⁵, en su tercera edición, convenientemente revisada y ampliada para 121 alimentos adicionales registrados en la población canaria. Las tablas de composición de alimentos es la utilizada para analizar los datos de la Encuesta Nutricional de Canarias. Se comparó la ingesta media de nutrientes con la ingesta recomendada de energía y nutrientes para mujeres embarazadas publicada por Ortega RM¹⁴⁶.

3.8.3. Tratamiento de las variables dietéticas

Para estimar la ingesta de energía y nutrientes diaria, se debe conocer primero el consumo diario de cada alimento. Para ello se utilizó una tabla de raciones estándares elaboradas por dietistas locales en Gran Canaria (Anexo V). Para conocer el consumo diario de cada alimento se realizó el siguiente cálculo:

Frecuencia de Consumo x Ración Estándar / 1 si el consumo es diario
Frecuencia de Consumo x Ración Estándar / 7 si el consumo es semanal
Frecuencia de Consumo x Ración Estándar / 30 si el consumo es mensual
Frecuencia de Consumo x Ración Estándar / 270 si el consumo sólo se realiza en alguna ocasión durante el embarazo

Una vez obtenido el consumo diario (g/día), se calculó la ingesta de nutrientes para cada individuo utilizando la tabla de composición, en la que se expresa la composición por cada 100g de alimento. Por ejemplo, para el cálculo del consumo de energía se realizó el siguiente cálculo: se multiplicó el consumo diario de cada alimento por su aporte de energía que está expresado en la tabla de composición de alimentos. Como la tabla refleja el valor para 100g de alimento debe dividirse por 100. Luego se sumó el aporte de energía de cada alimento para obtener el consumo total de energía de cada paciente.

Con los totales de la ingesta de energía y nutrientes para cada paciente, se creó una base de datos en SPSS, que posteriormente fue utilizada para llevar a cabo el análisis estadístico de los datos.

3.8.4. Calidad de la dieta en el embarazo: *Healthy Eating Index (HEI)*

La calidad de la dieta en mujeres embarazadas sanas fue evaluada utilizando el *Healthy Eating Index (HEI)* desarrollado por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA)¹⁴⁷. El HEI evalúa la calidad global de la dieta mediante la identificación de 10 componentes: 5 grupos de alimentos (cereales, vegetales, fruta, lácteos y carne, expresados en raciones/día), grasa total, grasa saturada, colesterol, sodio y variedad. El puntaje máximo posible del índice es 100. Cada uno de los 10 componentes posee un rango de puntaje de 0 a 10.

Para los 5 primeros componentes (grupos de alimentos), las participantes que consumieron el número de raciones diarias recomendadas para cada grupo de alimentos recibieron un puntaje de 10, si no consumieron alimentos de ese grupo reciben un puntaje de 0. Entre 0 y 10 el puntaje se calculó proporcionalmente¹⁴⁷. El HEI para mujeres embarazadas se calculó utilizando la ración diaria recomendada publicada en las Guías Dietéticas durante el embarazo por Ortega RM¹⁴⁶. Para el componente 6 (grasa total), se asignó el puntaje 10 a

aquellas participantes cuya ingesta de grasa total fue $\leq 30\%$ de la ingesta energética total y el puntaje 0 a aquellas participantes cuya ingesta de grasa total fue $\geq 45\%$. Entre estos dos puntos la puntuación fue asignada proporcionalmente. El puntaje para grasa saturada se calculó de forma semejante utilizando como puntos de corte $\leq 10\%$ para un puntaje 10 y $\geq 15\%$ para un puntaje 0. El puntaje para el colesterol y el sodio se calcularon en base a los miligramos consumidos. El punto de corte para el puntaje 10 fue 300 mg para el colesterol y 2400 mg para el sodio. El punto de corte correspondiente al puntaje 0 fue 450 mg y 4800 mg respectivamente.

Para el cálculo del componente variedad se realizó una modificación sobre el realizado por el USDA HEI. Kennedy y col.¹⁴⁷ calcularon este ítem analizando la información de un registro dietético de 3 días, mientras nosotros estudiamos la variedad de la dieta utilizando la información del consumo semanal de diferentes alimentos (cereales, legumbres, carnes, huevos, pescados, frutas, verduras y lácteos). Para determinar el límite superior e inferior de este componente se estableció como referencia los puntos de corte determinados por Kennedy y col.¹⁴⁷ A partir de estos datos extrapolamos esta información para obtener los puntos de corte para un período de 7 días de observación, teniéndose en cuenta además la exploración de los datos sobre el consumo y la consulta con investigadores. De esta forma, se establecieron los siguientes puntos de corte: se le asignó un puntaje 0 si la participante consumió ≤ 14 alimentos diferentes durante un período de 7 días y un puntaje 10 le correspondió a aquellas embarazadas cuyo consumo fue de ≥ 37 alimentos. Todos los puntajes intermedios fueron calculados de forma proporcional¹⁴⁷.

No incluimos en este estudio la suplementación con vitaminas y minerales, dado que este índice intenta reflejar sólo la ingesta proveniente de la dieta.

3.9. VARIABLES SOCIODEMOGRÁFICAS Y DEL ESTILO DE VIDA

Se recogieron las siguientes variables a través de la libreta sanitaria de la paciente: edad en años, tensión arterial (en mmHg), frecuencia cardiaca, semanas de gestación al parto, peso anterior al embarazo, peso anterior al parto, talla. El cálculo del índice de masa corporal (IMC) anterior al embarazo se realizó mediante la fórmula siguiente: $IMC = \text{peso en kilogramos} / \text{cuadrado de la talla en metros}$. Los valores del IMC se clasificaron según criterios recomendados por la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO)¹⁴⁸ en: delgado ($IMC < 18,5 \text{ kg/m}^2$), normopeso ($IMC: 18,5-24,9 \text{ kg/m}^2$), sobrepeso ($IMC 25-29,9 \text{ kg/m}^2$) y obesidad ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$).

Por otro lado se registró el nivel educativo (primario/EGB, FP/BUP/COU, universitario), la situación laboral (ama de casa, trabajo continuo, trabajo partido, turnos, en paro < 6 meses, en paro > 6 meses), número de hijos (primípara o múltipara), número de abortos y, en el caso de las múltiparas, edad de nacimiento del primer hijo (< 20, 20-24, 25-30, >30) y meses de lactancia materna con hijos anteriores (no le dio pecho, ≤ 3 meses, ≤ 6 meses, ≤ 12 meses, > 12 meses).

Se categorizaron en “sí” o “no” las siguientes variables: se consideraba obesa antes del embarazo, intentó reducir peso alguna vez, diagnóstico de amenaza de aborto en el primer trimestre del embarazo, si tomó píldoras anticonceptivas.

El consumo de tabaco se categorizó como no fumadoras: si no habían fumado nunca o que no habían fumado diariamente durante ≥ 6 meses en el pasado; ex-fumadoras: si no fumaron durante el embarazo pero fumaron regularmente en el pasado; fumadoras: aquellas mujeres que fumaron como máximo 10 cigarrillos al día durante el embarazo.

Se recogió información relativa a la actividad física antes y durante el embarazo: ejercicio físico antes del embarazo (nunca, diariamente, 2-3 veces x semana, 1 vez x semana), caminata diaria durante el embarazo (media hora, 1 hora, o más de 1 hora) y tipo de actividad diaria durante el embarazo (sedentaria: básicamente sentada y camina poco; moderada: camina pero no realiza esfuerzos vigorosos; activa: camina y realiza esfuerzos vigorosos).

En cuanto al estilo de vida se preguntó también por la frecuencia de desayuno en casa (todos los días, a veces, nunca), frecuencia de comida en casa (todos los días, a veces, nunca) y frecuencia de cena en casa (todos los días, a veces, nunca). Por último se preguntó por la grasa y utilizada para freír, cocinar y aliñar siendo las categorías de respuesta: aceite de oliva virgen, aceite de oliva o aceite de girasol.

3.10. DESARROLLO DEL ESTUDIO

Las participantes del estudio fueron reclutadas en las reuniones de preparación al parto que se realizan en los centro de salud de Gran Canaria. Allí se les informó del estudio, y se las invitó a participar del mismo. Se programó una cita con el obstetra con aquellas mujeres interesadas en formar parte del estudio. Además, se les solicitó que asistieran a la misma

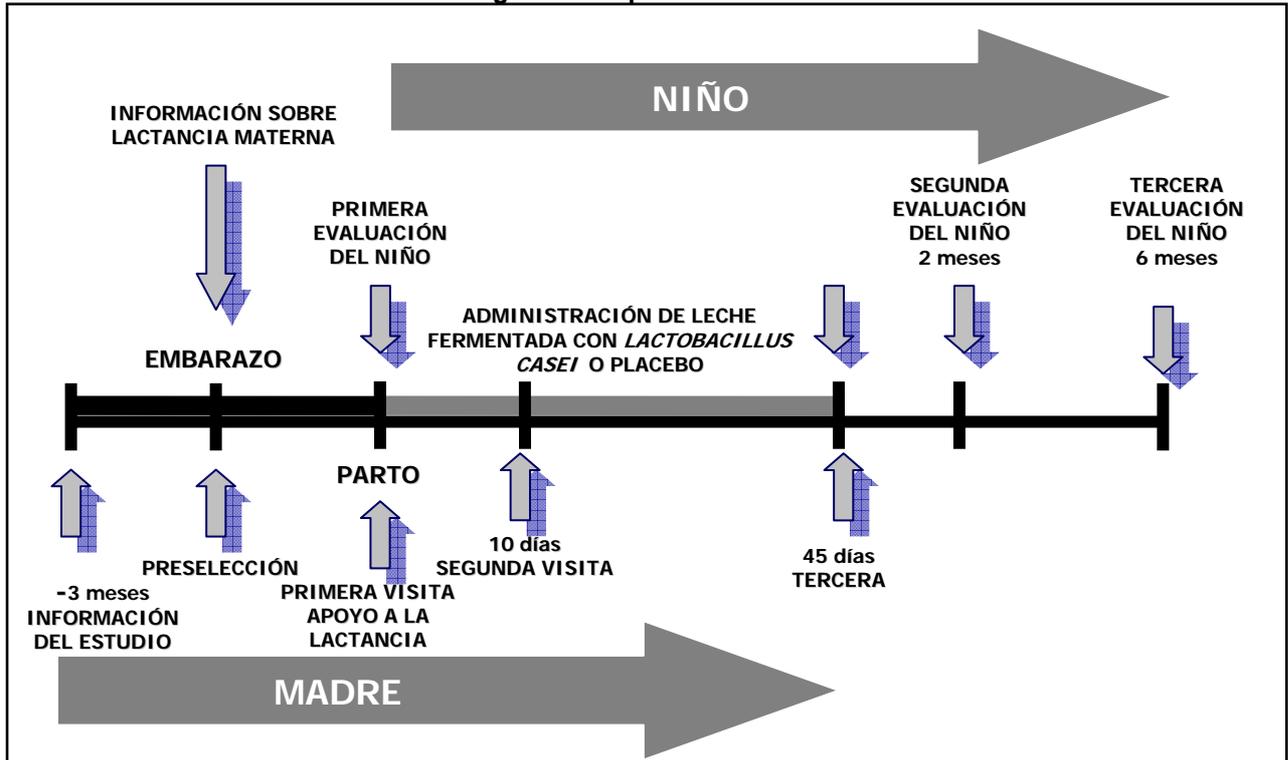
llevando los resultados de las pruebas analíticas que les habían practicado durante el embarazo. En esta entrevista el médico obstetra valoró los criterios de inclusión y exclusión. Aquellas mujeres que cumplían con dichos criterios firmaron el consentimiento informado.

En la realización de este estudio participaron 12 Centros de Salud de Las Palmas de Gran Canaria:

C. S. Tamaraceite
C. S. Vecindario
C. S. Alcaravaneras
C. S. Miller Bajo
C. S. Cono Sur
C. S. Canalejas
C. S. Barrio Atlántico
C. S. San Roque
C. S. San José
C. S. Guanarteme
C. S. Calero
C. S. Remudas

En estos Centros de Salud se contactó con 150 madres que asistieron a las charlas de preparación al parto. De éstas se preseleccionaron 121 para participar en el estudio. La preselección se realizó en el Hospital Materno Infantil de Gran Canaria por los doctores Don José Ángel García Hernández y Don Octavio Ramírez García. De las 121 mujeres preseleccionadas, 17 no fueron incluidas en el estudio después del parto debido a que no cumplían con los criterios de inclusión y exclusión. El principal motivo fue el fracaso en la instauración de la lactancia materna. Para intentar solucionar este problema y con la ayuda de Dña. Magdalena Villanueva Cabrera, Coordinadora de los Grupos de Apoyo de la Asociación Canaria Pro-Lactancia Materna, se dieron charlas de lactancia materna en el Centro de Ciencias de la Salud de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria y en los Centros de Salud a las madres preseleccionadas y también se les entregó material escrito para reforzar los conocimientos sobre el tema. Además, las madres incluidas en el estudio tenían disponible un número de teléfono las 24hs al cual podían consultar sobre dudas o problemas que surgían durante el período de lactancia.

Figura 6. Esquema del estudio



Finalmente fueron incluidas 104 mujeres durante el período comprendido entre el 20 de diciembre de 2002 y el 31 de diciembre de 2003 (figura 7).

Visita de inicio del estudio

- ✓ Se realizó dentro de las 72hs posteriores al parto en el Hospital Universitario Materno-Infantil de Gran Canaria.
- ✓ Se interrogó sobre el parto y se valoraron nuevamente los criterios de inclusión/exclusión.
- ✓ Se realizó la primera extracción de sangre y la toma de muestra de leche materna. Estas mediciones sirvieron para establecer los valores basales antes de comenzar con la administración de ACTIMEL® o placebo.
- ✓ Se completó el cuestionario de hábitos alimentarios.
- ✓ Se entregó el diario de la madre y el diario del niño.
- ✓ Se asignó el número de aleatorización correspondiente.

Segunda visita

- ✓ La segunda visita se realizó en el domicilio de la participante del estudio. Se programó a los 10 días posparto.
- ✓ Se tomó la segunda muestra de sangre y de leche.
- ✓ Se valoran los diarios del estudio.

Tercera visita

- ✓ Se realizó también en el domicilio de la participante. Se programó cuando terminó la administración de ACTIMEL® o placebo que fue de 6 semanas. Por tanto, la visita se concretó a los 45 días posparto.
- ✓ Se hizo la tercera y última extracción de sangre y leche materna.
- ✓ Se recogió el diario de la madre.

Once participantes fueron consideradas como pérdidas. Las causas de éstas se detallan en la tabla 4 (porcentaje total de pérdida: 10,6%).

Se obtuvieron 104 muestras de sangre en la primera visita (muestra basal, a las 72hs posteriores al parto), 101 en la visita dos (10 días postparto) y 98 en la tercera visita (al finalizar la administración de los productos del estudio; 45 días postparto). En cuanto a las muestras de leche materna se obtuvieron 104 muestras de calostro (muestra basal a las 72 hs posteriores al parto), 99 de leche intermedia o inicial (10 días posteriores al parto) y 91 de leche madura (al finalizar la administración de los productos del estudio; 45 días postparto).

Primera valoración del niño

- ✓ Se realizó dentro de las 72 hs posteriores al parto en el Hospital Universitario Materno-Infantil de Gran Canaria.
- ✓ Se completó una ficha pediátrica donde se registraron las características antropométricas del recién nacido.

Segunda valoración del niño

- ✓ Se realizó en el Hospital Universitario Materno-Infantil de Gran Canaria por el pediatra del equipo de investigación y se programó a los 2 meses de vida del niño.
- ✓ Se completó la información requerida en una ficha pediátrica. Se valora el Diario del Niño.

Tercera valoración del niño

- ✓ Se realizó también en el Hospital Universitario Materno-Infantil de Gran Canaria por el pediatra del equipo de investigación y se programó a los 6 meses de vida del niño.
- ✓ Se completó la ficha pediátrica. Se recoge el Diario del Niño.

En cuanto al seguimiento en los niños, se realizaron 92 revisiones a los 2 meses de vida del niño en el periodo comprendido entre el 18 de febrero de 2003 y el 04 de marzo de 2004 y 88 valoraciones a los 6 meses entre el 11 de julio de 2003 y el 28 de junio de 2004.

No se realizó la revisión de los 2 meses en doce participantes identificados con los siguientes códigos alfanuméricos: RD3 YFC, RD55 ERP, RD7 EAS, RD65 ILG, RD310 AAD, RD116, RRS, RD316 AAA, RD110 RCP, RD111 RBG, RD106 VSR, RD109 MGR y RD119 CAT.

La valoración a los 6 meses no se realizó en dieciséis participantes identificados con los siguientes códigos alfanuméricos: RD2 VSH, RD3 YFC, RD55 ERP, RD58 YIR, RD7 EAS, RD59 BDT, RD65 ILG, RD310 AAD, RD116 RRS, RD316 AAA, RD110 RCP, RD111 RBG, RD106 VSR, RD109 MGR, RD119 CAT y RD16 HR.

Los motivos por los cuales no se realizaron evaluaciones en todos los niños, fueron los siguientes:

- ✓ porque no se pudo localizar a la madre,
- ✓ porque ésta no quiso asistir a la visita después de 3 contactos telefónicos para concertar la cita,
- ✓ porque la madre suspendió la lactancia materna y no se realizó el seguimiento en el niño.

La evaluación de los niños se realizó en la Consultas Externas del Hospital Materno Infantil de Gran Canaria a cargo del Dr. Luís Peña Quintana y la Dra. Milagrosa Santana Hernández.

Figura 7. Esquema de la inclusión y seguimiento de las participantes

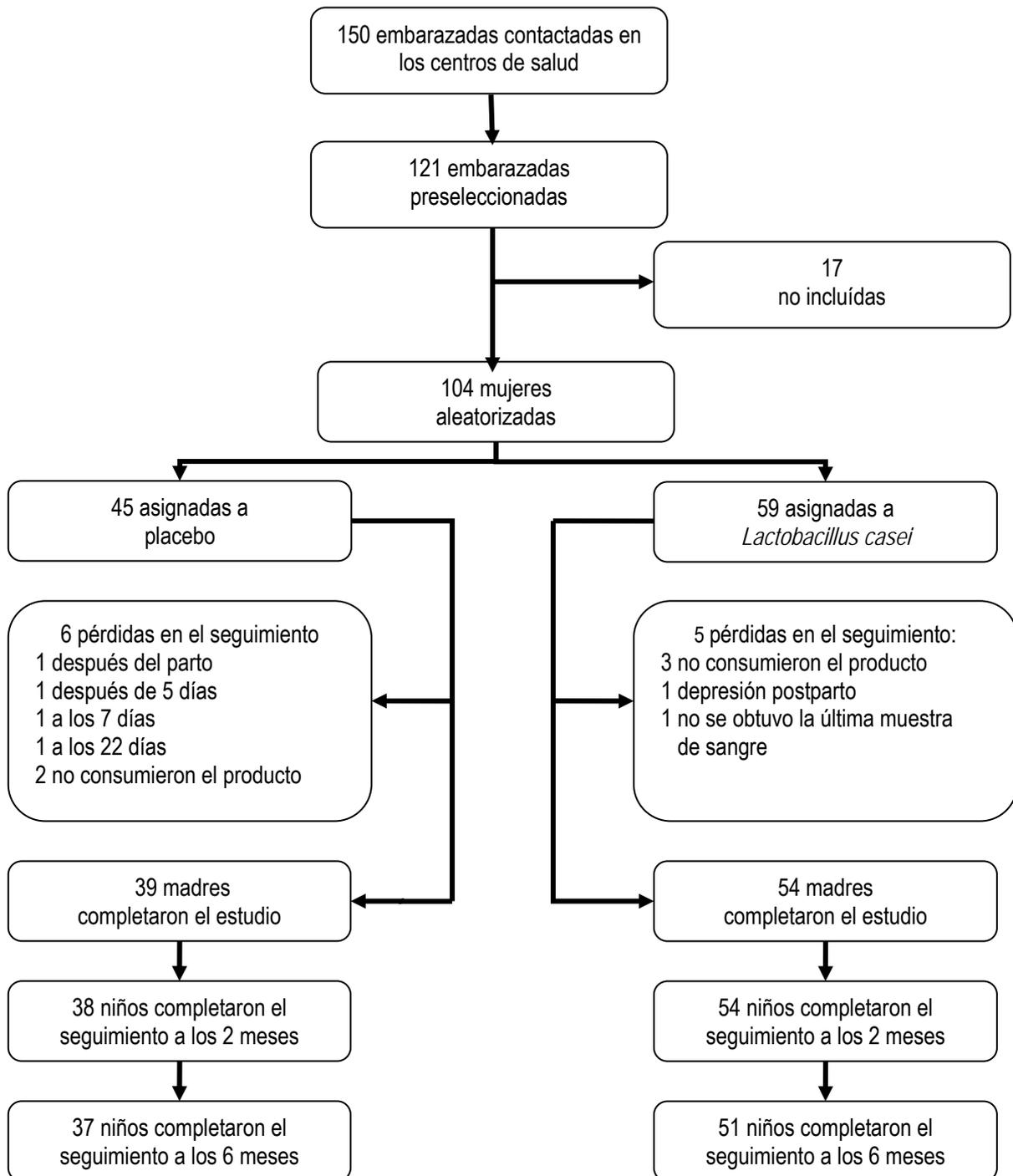


Tabla 4. Motivos de las pérdidas

Nº aleatorización/ Iniciales	Causas de violación de protocolo			Comentario
	No obtención muestra sangre para determinación inmunológica	Abandono	Deja de consumir >12 tomas (1-30 días) y/o >9 tomas (31-42 días)	
RD 35-LSA	1			No se puede obtener muestra sangre para determinación inmunológica V3
RD3-YFC		1		Madre se retira del estudio
RD55-ERP		1		Madre abandona el estudio por depresión
RD111-RGB	1		1	No se puede obtener la última muestra de sangre
RD310-AAD		1		Abandona el estudio el día 7
RD116-RRS		1		Abandona el estudio el día 5
RD316-AAA		1		Abandona el estudio el día 22
RD317-PPG			1	Deja de consumir 44 tomas del producto (del día 17 al 31) y 17 tomas (del día 37 al 42)
RD118-MMG			1	Deja de consumir 12 tomas del producto (del día 34 al 37)
RD119-CAT			1	Deja de consumir 30 tomas del producto (del día 25 al 34) y 18 tomas (día 37-42)
RD16-HR			1	Deja de tomar los productos del día 39 al 42 del estudio
TOTAL	2	5	5	11 pacientes

3.11. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La distribución de las características basales en cada grupo (control y placebo) se analizó mediante el test ji-cuadrado para las variables cualitativas y para el caso de las variables cuantitativas con la prueba t-student.

Se definieron nuevas variables: **variación absoluta**, para cada parámetro biológico estudiado en cada una de las visitas:

$$VA2 \text{ (variación absoluta)} = \text{visita 2} - \text{visita 1}$$

VA3 (variación absoluta) = visita 3 – visita 1

VA4 (variación absoluta) = visita 3 – visita 2

Para controlar la posible influencia de los valores basales en los parámetros biológicos se calcularon además las **variaciones porcentuales**:

VP2 (variación porcentual) = $100 \cdot (\text{visita2} - \text{visita 1}) / \text{visita1}$

VP3 (variación porcentual) = $100 \cdot (\text{visita3} - \text{visita 1}) / \text{visita1}$

VP4 (variación porcentual) = $100 \cdot (\text{visita3} - \text{visita 2}) / \text{visita2}$

El análisis de estas nuevas variables se llevó a cabo por intención de tratar. Se realizó un cálculo de los estadísticos descriptivos de tendencia central (media y mediana), dispersión (desviación estándar) y posición básicos (máximo, mínimo y cuartiles). Se realizaron pruebas de ajuste de las distribuciones de las distintas variables de la muestra, para determinar si las variables seguían una distribución normal, aplicando el test de Kolmogorov-Smirnov.

La comparación del perfil inmunológico y de los niveles de citocinas entre grupos, se realizó mediante test de comparación de medias (t-student) y en los casos en que la distribución normal no pudo ser asegurada, se aplicaron pruebas estadísticas no paramétricas (Mann-Whitney).

La concentración de citocinas se expresó en pg/ml y la concentración de IgA se expresó en mg/dl. En aquellas muestras de leche materna en las que se detectó una concentración de citocinas por debajo del límite de detección, se asignó un valor correspondiente a la mitad de dicho límite.

El análisis estadístico descriptivo de las variables dietéticas se realizó mediante el estudio de las proporciones de las variables cualitativas y de las medidas de tendencia central (media) y medidas de dispersión (desviación estándar) en el caso de las variables cuantitativas. Se calcularon medidas de posición (percentiles) para conocer la distribución de la población según la ingesta de energía y nutrientes.

Un nivel de significación $p < 0,05$ fue aplicado en todos los test. Los datos fueron informatizados y el análisis se realizó con el paquete estadístico SPSS versión 13.0.

4. Resultados

4.1. INFORMACIÓN GENERAL DE LA MADRE

Tras la aleatorización el grupo intervención (A) incluyó 59 mujeres y el grupo control (B) 45. Las tablas 5, 6 y 7 resumen los factores pronósticos por brazo de tratamiento tras la aleatorización.

Tabla 5. Características sociodemográficas en el grupo intervención y en el grupo control

	Intervención n = 59 Media (DE)	Control n = 45 Media (DE)	p#
Edad	29.4 (4.5)	30.2 (4.2)	0.343
Talla	162.6 (6.4)	162.3 (5.1)	0.752
Peso anterior al embarazo	61.0 (9.5)	61.54 (9.9)	0.831
IMC	23.0 (3.3)	23.3 (3.5)	0.640
Peso visita preselección	73.8 (9.9)	73.2 (10.8)	0.790
Peso anterior al parto	74.3 (9.9)	74.2 (10.9)	0.968
Personas en el hogar	3.59 (0.89)	3.43 (0.85)	0.356
Nivel de estudios (%)			
Primarios/EGB	16.9	27.3	0.325*
FP/BUP/COU	49.2	36.4	
Universitario	33.9	36.4	
Situación laboral (%)			
Ama de casa	8.5	11.4	0.836*
Activa jornada partida	18.6	18.2	
Activa jornada continua	32.2	31.8	
Activa jornada a turnos	20.3	27.3	
Paro < 6 meses	10.2	6.8	
Paro ≥ 6 meses	10.2	4.5	

IMC: índice de masa corporal; #t-student; * Ji-cuadrado ; DE: desviación estándar

La media de edad fue 29.4 (DE: 4.5) y 30.2 (DE: 4.2) en el grupo intervención y en el grupo placebo, respectivamente. El 76,3% de las madres del grupo intervención eran primíparas. En el grupo control este porcentaje fue del 75,6%. En la evaluación inicial de los grupos en cuanto a las características sociodemográficas no se observó diferencia significativa entre ellos (p<0,05).

Tabla 6. Datos generales relacionados con la mujer y el embarazo en el grupo intervención y en el grupo control

	Intervención n = 59 Media (DE)	Control n = 45 Media (DE)	p*
PAS	111.83 (11.68)	111.33 (13.87)	0.845#
PAD	65.96 (7.35)	66.44 (8.64)	0.762#
FC	77.93 (10.60)	77.53 (9.07)	0.841#
Tabaquismo antes del embarazo (%)			
No fumadora	56.9	48.9	0.287
Ex-fumadora	39.7	40.0	
Fumadora	3.4	11.1	
Amenaza de aborto (%)	25.9	24.4	0.870
Número de hijos (%)			
Primípara	76.3	75.6	0.933
Múltipara	23.7	24.4	
Número de abortos (%)			
Ninguno	74.6	72.7	0.290
Uno	16.9	25.0	
Dos	8.5	2.3	
Edad al nacimiento del primer hijo (%)			
< 20	5.1	4.5	0.352
20-24	22.0	11.4	
25-30	42.4	38.6	
> 30	30.5	45.5	
Meses de lactancia con hijos anteriores (%)			
No le dio pecho	28.6	0.0	0.489
Hasta 3 meses	21.4	30.0	
Hasta 6 meses	28.6	40.0	
Hasta 12 meses	7.1	10.0	
Más de 12 meses	14.3	20.0	
Ha tomado píldoras anticonceptivas (%)	76.3	72.7	0.682

t-student; * Ji-cuadrado; DE: desviación estándar; PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica; FC: frecuencia cardíaca

Considerando las características generales relacionadas con la historia médica de la mujer y el embarazo, no se observaron diferencias significativas entre grupos.

Tabla 7. Actividad física y hábitos alimentarios durante el embarazo en el grupo intervención y en el grupo control

	Intervención n = 59	Control n = 45	p*
Ejercicio antes embarazo (%)			
Nunca	55.9	54.4	0.992
Diariamente	13.6	13.6	
2-3 veces x semana	27.1	27.3	
1 vez x semana	3.4	4.5	
Caminata diaria en el embarazo (%)			
0 a media hora	57.6	47.7	0.583
media a 1 hora	35.6	45.5	
más de 1 hora	6.8	6.8	
Actividad (%)			
Sedentaria	28.8	31.8	0.801
Moderada	47.5	40.9	
Activa	23.7	27.3	
Sobrepeso antes embarazo (%)	23.7	34.1	0.247
Intento reducir peso (%)	10.2	18.2	0.241
Frecuencia desayuno en casa (%)			
Todos los días	64.4	68.2	0.582
A veces	16.9	20.5	
Nunca	18.6	11.4	
Frecuencia comida en casa (%)			
Todos los días	66.1	59.1	0.699
A veces	20.3	27.3	
Nunca	13.6	13.6	
Frecuencia cena en casa (%)			
Todos los días	79.7	79.5	0.989
A veces	20.3	20.5	
Grasa utilizada para freír (%)			
Aceite de oliva virgen	20.3	34.1	0.176
Aceite de oliva	64.4	59.1	
Aceite de girasol	15.3	6.8	

* Ji-cuadrado

Tabla 7. Actividad física y hábitos alimentarios durante el embarazo en el grupo intervención y en el grupo control (continuación)

	Intervención n = 59	Control n = 45	p*
Grasa utilizada para cocinar (%)			
Aceite de oliva virgen	22.0	34.1	0.395
Aceite de oliva	69.5	59.1	
Aceite de girasol	8.5	6.8	
Grasa utilizada para aliñar (%)			
Aceite de oliva virgen	45.8	59.1	0.343
Aceite de oliva	50.8	36.4	
Aceite de girasol	3.4	4.5	

* Jii-cuadrado

En relación a los valores de las variables que se utilizan para evaluar la actividad física y los hábitos alimentarios durante el embarazo, se observó una distribución homogénea, sin encontrarse diferencias significativas entre grupos.

Con respecto a la actividad física, el 55,9% de las madres del grupo intervención manifestaron que no realizaban ningún tipo de ejercicio antes del embarazo. Un porcentaje similar se observa en el grupo control (54,4%).

En relación al sobrepeso, se observó que en el grupo intervención el 23,7% de las madres se consideraban con sobrepeso antes del embarazo. En este mismo grupo un 10,2% intentó reducir peso. En el grupo control observamos un porcentaje un poco mayor (34,1%) de mujeres que se consideraban con sobrepeso antes del embarazo, siendo 18,2% el porcentaje que intentó reducir de peso.

Con respecto a los hábitos alimentarios observamos que el 18,6% de las madres del grupo intervención salen de casa sin desayunar. En el grupo control este porcentaje fue del 11,4%. Al tener en cuenta la grasa que utilizan para freír y para cocinar, vemos que ambos grupos prefieren el aceite de oliva. Para aliñar el grupo intervención prefiere el aceite de oliva (50,8%) mientras que el grupo control prefiere aceite de oliva virgen (59,1%).

4.2. PARÁMETROS INMUNOLÓGICOS EN SANGRE MATERNA

4.2.1. Perfil Th1/Th2 y Perfil Tc1/Tc2

No existieron diferencias significativas entre grupos en la variación porcentual del perfil Th1/Th2, comparado al nivel basal observado. Observamos un aumento de este parámetro en ambos grupos.

Tabla 8. Descripción del perfil Th1/Th2 (CD3+CD8- IFN γ + / CD3+CD8- IL4+) por grupo

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	58	59	57	58	56	57	58	56	57
Perdidos	1	0	2	1	3	2	1	3	2
Media	4,81	5,46	6,27	,63	1,44	,80	21,11	36,10	19,82
DE	2,11	1,95	3,64	1,68	3,37	3,26	39,62	63,05	58,65
Mínimo	1,27	1,86	1,92	-5,30	-7,01	-4,30	-54,29	-59,78	-66,55
Máximo	12,54	10,60	22,81	3,86	15,95	15,69	205,36	284,61	220,26
Percentil 25	3,57	4,05	3,91	,027	-,1516	-1,23	,95	-2,84	-21,99
50	4,45	5,62	5,39	,69	,73	,34	15,07	18,66	5,90
75	5,56	6,59	7,21	1,52	1,94	1,58	45,79	51,14	29,03
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	5	5	5	3	5	5
Media	4,29	4,93	5,78	,63	1,52	,88	21,86	41,72	20,12
DE	1,77	1,77	2,89	1,37	2,27	1,94	37,92	51,08	42,38
Mínimo	2,27	2,27	2,49	-2,92	-2,40	-1,84	-46,73	-37,36	-38,98
Máximo	10,47	10,10	17,82	3,54	9,44	7,72	143,75	156,09	176,14
Percentil 25	2,99	3,49	3,86	-,28	,04	-,50	-7,68	1,08	-11,94
50	3,78	4,61	5,05	,70	,98	,48	21,35	29,24	8,96
75	5,45	5,68	6,67	1,42	2,77	1,80	41,75	79,52	37,51
p*	0,133	0,162**	0,573	0,978**	0,624	0,367	0,924**	0,373	0,468

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

Figura 8. Mediana del perfil Th1/Th2 en cada visita por grupo

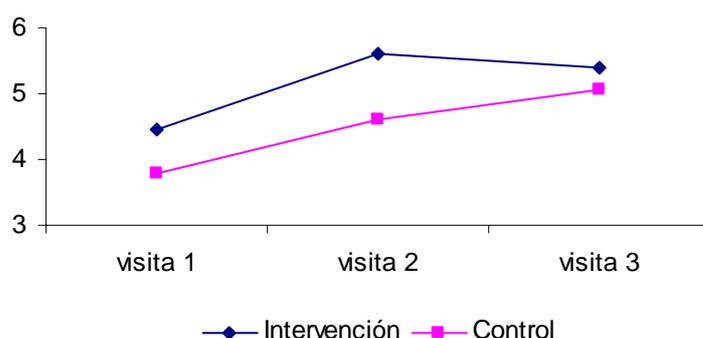
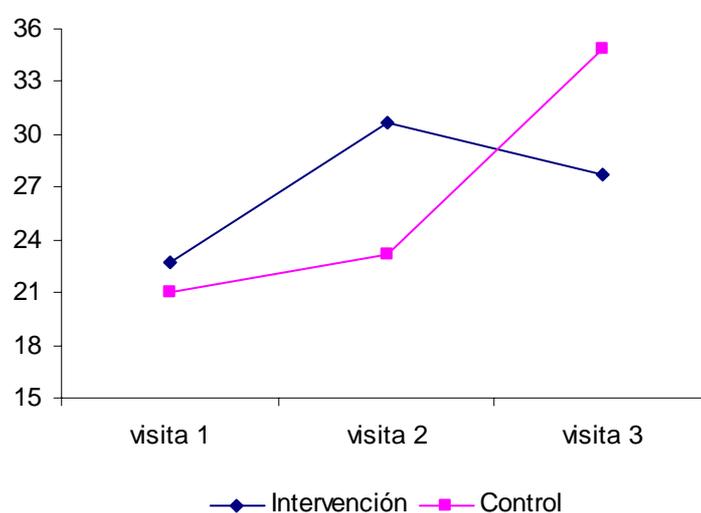


Tabla 9. Descripción del perfil Tc1/Tc2 (CD3+CD8+ IFN γ + / CD3+CD8+ IL4+) por grupo

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	54	58	55	53	51	54	53	51	54
Perdidos	5	1	4	6	8	5	6	8	5
Media	29,31	44,10	46,32	14,45	16,74	-4,62	75,89	91,76	26,72
DE	25,27	49,10	59,37	44,38	58,17	55,72	130,63	179,42	102,37
Mínimo	1,42	1,97	3,37	-104,82	-96,71	-241,56	-81,63	-75,32	-85,98
Máximo	128,40	320,60	375,67	222,10	318,00	155,38	553,24	631,82	450,91
Percentil 25	10,75	19,51	14,78	,39	-5,85	-12,33	4,78	-18,14	-41,06
50	22,74	30,36	27,67	3,91	3,63	,26	25,19	22,61	3,37
75	37,79	48,54	53,15	20,27	18,40	12,41	101,09	106,75	69,25
Control									
N	40	42	40	40	38	40	40	38	40
Perdidos	3	3	5	5	7	5	5	7	5
Media	32,37	41,01	47,48	9,32	16,66	9,99	46,44	80,91	81,11
DE	23,30	47,38	43,89	42,82	34,95	39,18	125,60	145,36	164,91
Mínimo	1,03	1,54	2,06	-56,59	-50,02	-92,21	-90,84	-71,56	-83,21
Máximo	96,77	242,14	163,31	179,55	95,69	101,35	513,20	535,41	596,12
Percentil 25	13,41	13,79	16,61	-3,13	-4,43	-6,39	-13,05	-22,32	-33,59
50	20,99	23,17	34,87	1,41	5,91	5,22	9,86	39,04	37,02
75	53,49	53,33	67,24	19,22	33,95	27,98	52,33	124,39	133,71
p*	0,431	0,364	0,562	0,123	0,630	0,202	0,102	0,914	0,099

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; DE: desviación estándar

Figura 9. Mediana del perfil Tc1/Tc2 en cada visita por grupo



No se observaron diferencias significativas entre grupos, en relación a la variación porcentual del perfil Tc1/Tc2, con respecto al nivel basal observado.

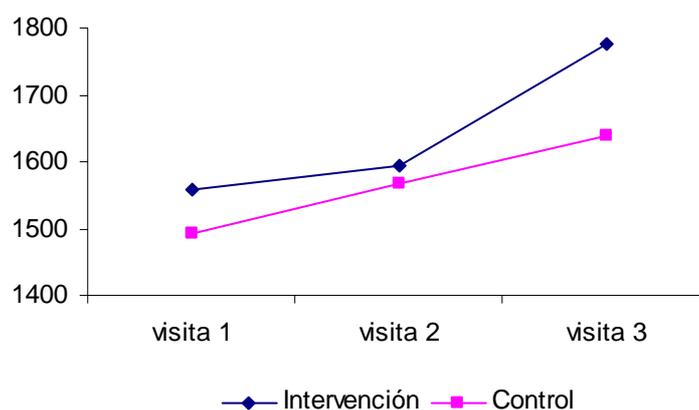
4.2.2. Subpoblaciones linfocitarias

Tabla 10. Número de linfocitos T totales (CD3) por grupo a lo largo del tiempo (n°células/ μ L)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	1587,25	1692,71	1805,22	105,45	226,24	121,74	11,86	19,08	15,19
DE	436,60	475,38	447,71	504,39	406,20	507,73	35,79	30,97	48,89
Mínimo	811,00	601,00	1001,00	-1543,00	-908,00	-652,00	-67,53	-36,70	-33,88
Máximo	2669,00	2884,00	2862,00	1182,00	1041,00	2031,00	123,77	114,55	273,72
Percentil 25	1237,00	1308,00	1531,75	-146,00	-44,25	-264,00	-7,42	-2,27	-12,70
50	1559,00	1594,00	1775,00	178,00	316,50	61,50	10,47	16,67	3,40
75	1856,00	2071,00	1965,25	319,00	500,00	392,50	29,39	38,38	27,31
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	1519,11	1693,00	1664,77	173,88	180,80	-13,70	15,93	17,03	12,84
DE	384,822	496,62	435,46	500,51	475,61	479,60	38,50	37,69	87,01
Mínimo	797,00	314,00	612,00	-1119,00	-1433,00	-880,00	-78,09	-70,07	-58,98
Máximo	2484,00	2714,00	2773,00	1208,00	1353,00	1653,00	122,14	169,76	526,43
Percentil 25	1241,25	1409,25	1344,75	-124,75	-2,00	-302,75	-7,77	-,15	-18,21
50	1494,50	1566,50	1640,50	156,00	140,50	-12,00	13,06	10,67	-,68
75	1840,50	2122,00	1960,25	465,25	520,50	257,00	34,85	32,76	16,00
p*	0,419**	0,998**	0,203	0,502**	0,613**	0,188**	0,581	0,718	0,225

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

Figura 10. Mediana del número de linfocitos T totales en cada visita por grupo



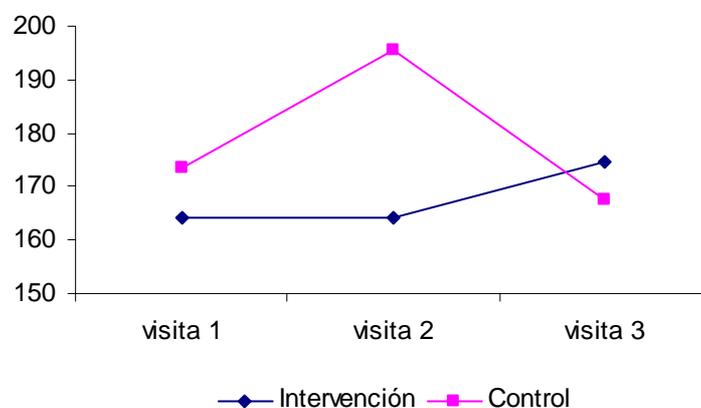
No existieron diferencias significativas entre grupos en relación a la variación porcentual del número total de células CD3/ μ L, con respecto al nivel basal. A los 45 días posparto, se observó un aumento de este parámetro en ambos grupos, sin embargo, el aumento en el grupo intervención es mayor (17%), que en el grupo control (11%).

Tabla 11. Número de linfocitos B (CD19) por grupo a lo largo del tiempo (n°células/ μ l)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	173,83	171,94	190,63	-1,88	16,62	18,89	19,31	20,93	17,42
DE	91,82	73,15	93,01	84,16	61,34	69,71	75,18	49,94	54,27
Mínimo	13,00	40,00	39,00	-265,00	-167,00	-95,00	-66,67	-45,18	-50,97
Máximo	568,00	360,00	535,00	217,00	178,00	314,00	400,00	200,00	317,17
Percentil 25	102,00	116,00	124,50	-38,00	-20,25	-26,75	-18,86	-7,82	-14,43
50	164,00	164,00	174,50	-5,00	11,50	17,50	-4,56	7,83	10,52
75	218,00	195,00	229,00	53,00	38,75	49,25	40,11	39,73	36,03
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	188,83	208,97	193,90	20,14	9,27	-10,10	56,77	46,18	17,71
DE	94,09	117,32	109,310	100,69	72,80	112,92	286,57	245,58	97,31
Mínimo	10,00	21,00	77,00	-162,00	-165,00	-348,00	-69,12	-67,35	-80,00
Máximo	377,00	558,00	469,00	346,00	154,00	217,00	1840,00	1540,00	538,10
Percentil 25	111,75	132,25	103,25	-32,50	-48,75	-59,50	-19,22	-18,44	-32,55
50	173,50	195,50	167,50	-2,50	12,50	6,50	-1,14	12,73	3,05
75	248,00	252,50	262,75	64,75	62,50	46,75	40,41	37,63	35,60
p*	0,425**	0,126	0,806	0,700	0,845	0,214	0,842	0,578	0,333

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

Figura 11. Mediana del número de linfocitos B en cada visita por grupo



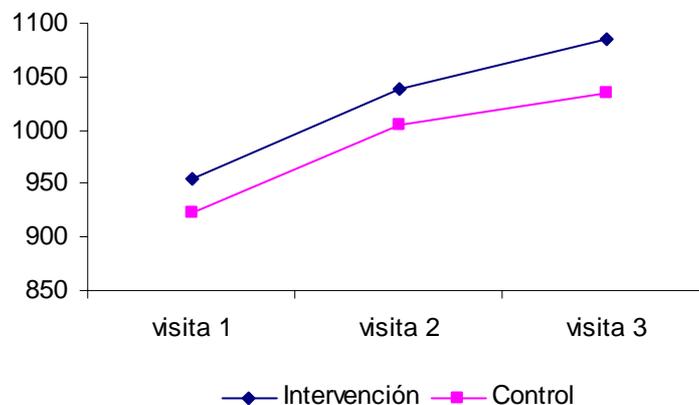
No existieron diferencias significativas entre grupos en relación a la variación porcentual del número de células CD19/ μ L con respecto al nivel basal. Entre la visita 2 y la visita 3 se observó un aumento del 11% en el grupo intervención, frente a un aumento del 3% en el grupo control.

Tabla 12. Número de células CD3/CD4 por grupo a los largo del tiempo (n°células/ μ L)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	58	59	58	58	57	58	58	57	58
Perdidos	1	0	1	1	2	1	1	2	1
Media	954,03	1038,61	1086,01	72,03	130,85	55,53	12,91	18,91	15,28
DE.	292,91	343,00	304,85	323,14	274,63	334,42	39,35	33,06	53,01
Mínimo	507,00	285,00	581,00	-925,00	-621,00	-591,00	-67,78	-36,53	-44,01
Máximo	1748,00	1777,00	1959,00	816,00	803,00	1168,00	154,84	120,51	269,12
Percentil 25	714,50	765,00	880,75	-98,25	-49,00	-221,25	-10,08	-5,21	-17,51
50	899,00	1002,00	1042,50	60,50	146,00	32,50	7,15	14,91	3,83
75	1145,25	1306,00	1229,50	251,50	297,00	255,75	28,87	35,40	37,42
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	5	5	3	5	3	3	5	5
Media	922,02	1005,40	1035,42	83,38	141,75	45,97	14,45	20,62	24,44
DE.	279,29	335,20	317,72	341,035	296,69	359,98	39,05	42,15	104,85
Mínimo	500,00	174,00	371,00	-1122,00	-726,00	-663,00	-79,58	-66,18	-64,12
Máximo	1651,00	1617,00	1830,00	708,00	989,00	1015,00	110,10	197,80	583,33
Percentil 25	704,25	790,25	842,50	-65,25	-42,00	-159,75	-6,33	-5,74	-16,78
50	877,50	986,00	995,00	47,00	140,50	31,00	5,63	17,67	2,51
75	1109,75	1254,75	1205,50	296,25	291,50	189,50	37,75	35,88	20,61
p*	0,484**	0,629**	0,429**	0,727	0,853**	0,893**	0,655	0,994	0,654

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

Figura 12. Concentración media de células CD3/CD4 en cada visita por grupo



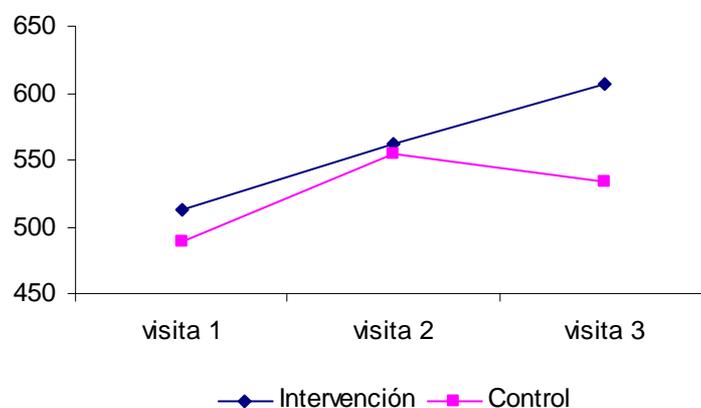
No existieron diferencias significativas entre grupos en relación a la variación porcentual del número de células CD4/ μ L con respecto al nivel basal. Se observó un aumento de este parámetro en ambos grupos.

Tabla13. Número de células CD3/CD8 por grupo a lo largo del tiempo (n°células/ μ L)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	58	59	58	58	57	58	58	57	58
Perdidos	1	0	1	1	2	1	1	2	1
Media	512,48	562,27	606,03	51,93	97,31	45,87	18,45	24,08	14,06
DE.	191,99	190,49	238,89	196,73	158,01	211,21	44,15	39,42	51,93
Mínimo	178,00	269,00	61,00	-606,00	-404,00	-392,00	-67,56	-86,88	-85,41
Máximo	1215,00	1123,00	1519,00	750,00	467,00	742,00	201,07	145,48	254,98
Percentil 25	372,75	417,00	439,25	-27,00	14,00	-60,50	-5,97	3,33	-12,16
50	488,00	543,00	574,00	60,50	98,00	6,00	11,99	17,33	1,12
75	592,75	685,00	748,00	127,50	189,00	115,75	33,31	44,05	27,24
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	489,21	555,00	533,07	65,78	47,92	-21,62	17,27	15,51	11,75
DE	149,45	205,86	154,02	161,32	153,99	185,95	36,98	37,22	90,45
Mínimo	215,00	112,00	194,00	-386,00	-307,00	-529,00	-77,51	-52,10	-55,61
Máximo	923,00	1333,00	804,00	410,00	371,00	604,00	129,11	144,49	539,29
Percentil 25	390,50	421,00	411,50	-42,25	-48,25	-110,25	-7,64	-8,23	-20,48
50	480,50	541,50	547,50	63,50	44,00	-32,00	16,98	10,89	-5,38
75	598,75	666,50	660,50	157,25	168,25	43,50	36,88	37,46	10,48
p*	0,514**	0,855**	0,069**	0,650	0,129**	0,096	0,691	0,200	0,146

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

Figura 13. Concentración media de células CD3/CD8 en cada visita por grupo



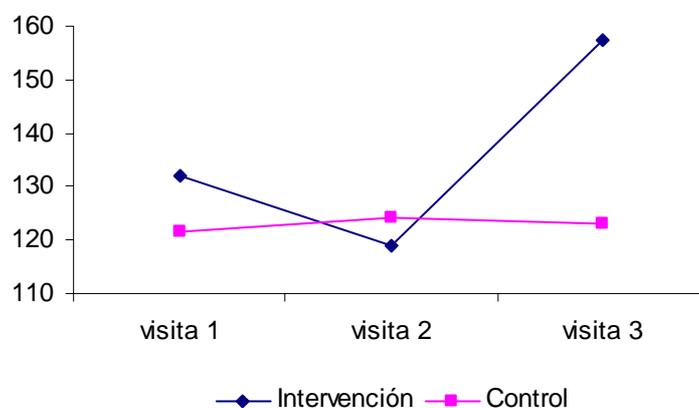
No existieron diferencias significativas entre grupos en relación a la variación porcentual del número de células CD8/ μ L, con respecto al nivel basal. Se observó un aumento de este parámetro en ambos grupos, sin embargo el número de células CD8/ μ L siempre es mayor en el grupo intervención, siendo la variación porcentual del número de células de 17% mientras que el aumento del grupo control es del 11%. Entre la visita 2 y 3 se observó un descenso en la variación porcentual del 5% del número de células CD8/ μ L en el grupo control, en tanto que en el grupo que consumió *Lactobacillus casei* se observó un aumento del 1% en el número de células.

Tabla 14. Número de células *natural killer* (CD3-CD56+) por grupo a lo largo del tiempo (n°células/ μ L)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	58	59	58	58	57	58	56	52	54
Perdidos	1	0	1	1	2	1	3	7	5
Media	145,77	159,16	199,10	11,72	52,52	39,10	59,91	87,14	37,82
DE	80,42	94,65	135,27	88,71	107,97	111,45	176,07	192,36	104,99
Mínimo	20,00	39,00	37,00	-170,00	-155,00	-149,00	-77,94	-51,22	-90,61
Máximo	409,00	465,00	602,00	268,00	404,00	434,00	1153,85	984,62	460,00
Percentil 25	81,75	98,00	106,25	-43,50	-13,50	-32,75	-21,54	-17,56	-32,22
50	132,00	119,00	157,50	6,00	32,00	18,50	17,99	40,62	14,44
75	194,500	194,00	236,25	46,00	108,00	84,25	74,52	103,44	68,02
Control									
N	42	42	40	42	40	40	40	38	37
Perdidos	3	3	5	3	5	5	5	7	8
Media	144,90	164,42	157,50	19,52	11,50	-10,75	68,14	86,14	39,08
DE.	92,75	118,57	116,85	71,94	89,609	97,45	218,49	243,37	148,63
Mínimo	10,00	36,00	25,00	-112,00	-277,00	-317,00	-100,00	-100,00	-100,00
Máximo	490,00	640,00	512,00	325,00	294,00	227,00	1300,00	1300,00	480,00
Percentil 25	95,00	91,75	69,75	-19,25	-41,2500	-54,00	-31,58	-36,30	-54,60
50	121,50	124,00	123,00	13,00	5,00	-13,00	11,63	9,25	-9,80
75	161,25	203,25	212,00	46,75	63,50	43,00	100,53	102,88	46,13
p*	0,743	0,880	0,046	0,340	0,060	0,026	0,926	0,211	0,161

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; DE: desviación estándar

Figura 14. Mediana del número de células NK en cada visita por grupo

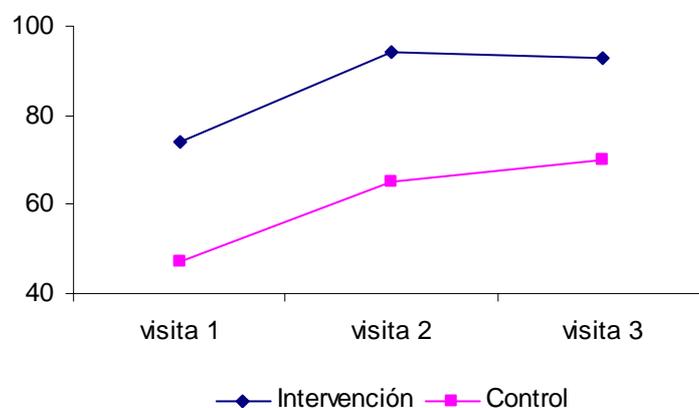


Tras el consumo de leche fermentada con *Lactobacillus casei* durante el puerperio, se apreció un aumento significativo de células NK ($p=0.026$). Se observó en el grupo intervención un número mayor de células CD56/ μ L con respecto al nivel basal. Esta tendencia tiende a la significación entre las visitas 1 y 3 con un valor absoluto de células CD56/ μ L mayor en el grupo que consumió leche fermentada con *Lactobacillus casei*. Entre las visitas 2 y la 3 se detectó un aumento significativo en la variación absoluta del número de células en el grupo intervención, en tanto que en el grupo control se observó un descenso en el valor absoluto del número de células CD56/ μ L.

Tabla 15. Número de células *NK T-like* (CD3+CD56+) por grupo a lo largo del tiempo (n°células/ μ L)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	58	59	55	58	54	55	56	52	54
Perdidos	1	0	4	1	5	4	3	7	5
Media	80,03	94,16	108,87	14,03	32,51	14,43	59,91	87,14	37,82
DE	53,77	51,17	73,02	56,00	55,28	62,01	176,07	192,36	104,99
Mínimo	,00	,00	18,00	-124,00	-73,00	-193,00	-77,94	-51,22	-90,61
Máximo	252,00	257,00	326,00	213,00	244,00	193,00	1153,85	984,62	460,00
Percentil 25	39,75	61,00	48,00	-11,00	-6,25	-26,00	-21,54	-17,56	-32,22
50	74,00	94,00	93,00	11,50	28,00	13,00	17,99	40,62	14,44
75	112,25	125,00	144,00	45,50	56,50	51,00	74,52	103,44	68,02
Control									
N	41	41	39	40	38	38	40	38	37
Perdidos	4	4	6	5	7	7	5	7	8
Media	70,56	78,41	82,17	4,07	12,50	7,68	68,14	86,14	39,08
DE	60,72	58,80	68,96	46,77	51,87	71,59	218,49	243,37	148,63
Mínimo	5,00	,00	,00	-170,00	-101,00	-163,00	-100,00	-100,00	-100,00
Máximo	228,00	249,00	332,00	65,00	138,00	185,00	1300,00	1300,00	480,00
Percentil 25	24,50	33,50	28,00	-14,00	-21,00	-38,25	-31,58	-36,30	-54,60
50	47,00	65,00	70,00	9,50	4,50	-8,00	11,63	9,25	-9,80
75	97,50	101,00	116,00	35,75	45,25	28,50	100,53	102,88	46,13
p*	0,177	0,158**	0,041	0,646	0,083**	0,205	0,926	0,211	0,161

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

Figura 15. Mediana del número de células *NK T-like* en cada visita por grupo

No existieron diferencias significativas entre grupos en relación a la variación porcentual del número de células CD3+CD56+/ μ L con respecto al nivel basal. Se observó un aumento de este parámetro en ambos grupos, sin embargo, el número de células es siempre mayor en el grupo intervención. A los 45 días posparto, la variación porcentual del número de células fue del 41% y del 9% para el grupo intervención y control respectivamente. Entre las visitas 2 y 3 se determinó un descenso en el grupo control del 10% del número de células, mientras que en el grupo que consumió *Lactobacillus casei* se observó un aumento del número de células del 14%.

4.2.3. Fórmula leucocitaria

Tabla 16. Número de neutrófilos por grupo a lo largo del tiempo (n^océlulas/ μ L)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	7095,2	4265,0	3505,5	-2830,1	-3424,1	-723,9	-33,06	-42,77	-7,58
DE	3042,6	2029,2	1172,1	3242,8	2990,1	2249,5	36,00	25,52	41,21
Mínimo	3180,0	1510,0	1170,0	-11470,0	-13580,0	-12890,0	-73,53	-87,05	-77,19
Máximo	16700,0	16700,0	7970,0	8790,0	1160,0	4670,0	123,90	26,01	141,52
Percentil 25	4940,0	3230,0	2735,0	-4170,0	-4730,0	-1157,5	-55,33	-62,57	-30,42
50	6520,0	3990,0	3310,0	-2550,0	-2780,0	-555,0	-38,58	-45,57	-14,63
75	8440,0	4700,0	3857,5	-1080,0	-1495,0	110,0	-21,25	-30,41	3,03
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	6838,3	4199,0	3482,5	-2639,2	-3443,0	-712,5	-34,90	-46,10	-10,76
DE	2094,1	1429,2	1098,5	2102,1	2118,6	1507,5	22,956	20,43	31,91
Mínimo	2990,0	1540,0	1630,0	-8750,0	-9000,0	-4610,0	-80,77	-78,60	-63,94
Máximo	11600,0	8760,0	5710,0	2180,0	-30,0	1950,0	33,13	-,83	68,42
Percentil 25	5210,0	3377,5	2535,0	-3722,5	-4835,0	-1315,0	-50,35	-59,48	-32,04
50	6615,0	3955,0	3325,0	-2540,0	-3225,0	-750,0	-41,43	-49,34	-17,20
75	8022,5	4800,0	4420,0	-1020,0	-1767,5	405,0	-21,47	-36,85	11,36
p*	0,812	0,942	0,963	0,757	0,551	0,845	0,715	0,659	0,983

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; DE: desviación estándar

No existieron diferencias significativas entre grupos en relación a la variación porcentual del número de neutrófilos totales por μ L. Los valores de referencia de esta variable están comprendidos entre 2,5 y $8 \times 10^3/\mu$ L. Entre las visitas 1 y 3 se observó una disminución del 46% en el grupo intervención frente a una disminución del 49% en el grupo control. La reducción porcentual observada entre las visitas 1 y 2 fue la siguiente: 39% para el grupo intervención y 41% para el grupo control.

Figura 16. Mediana de la concentración de neutrófilos en cada visita por grupo

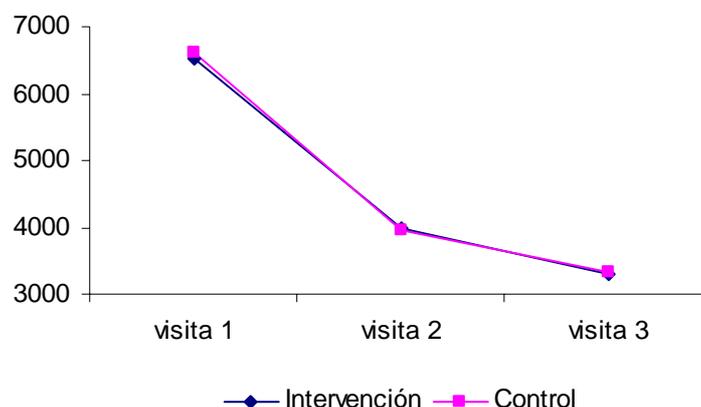


Tabla 17. Número de linfocitos por grupo a lo largo del tiempo (n°células/ μ L)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	2057,62	2205,23	2326,55	147,61	268,96	128,12	10,10	15,23	11,47
DE	478,57	538,75	551,11	537,96	435,11	568,98	25,65	22,68	43,400
Mínimo	1200,00	807,00	1200,00	-1888,00	-810,00	-790,00	-65,78	-27,64	-39,70
Máximo	3310,00	3660,00	3530,00	1220,00	1070,00	2548,00	78,33	70,83	259,47
Percentil 25	1700,00	1810,00	1917,50	-110,00	-5,00	-237,50	-5,85	-,22	-10,27
50	2060,00	2220,00	2290,00	230,00	295,00	20,00	12,55	13,53	1,04
75	2380,00	2560,00	2652,50	470,00	612,50	430,00	25,82	32,17	20,82
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	1961,42	2286,90	2226,75	325,47	303,25	-48,00	19,87	18,96	,73
DE	446,38	526,77	520,80	488,71	482,835	534,55	29,24	31,56	26,13
Mínimo	1020,00	1200,00	800,00	-550,00	-1230,00	-1250,00	-31,43	-60,59	-60,98
Máximo	3040,00	3560,00	3540,00	1580,00	1480,00	930,00	105,79	145,10	72,50
Percentil 25	1647,50	1900,00	1922,50	27,50	5,00	-492,50	1,24	,1931	-17,36
50	1955,00	2180,00	2290,00	250,00	280,00	-50,00	14,11	15,27	-2,17
75	2330,00	2572,50	2540,00	622,50	610,00	342,50	32,21	30,69	16,43
p*	0,419**	0,450**	0,370**	0,296	0,715**	0,126**	0,244	0,199	0,497**

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

No existieron diferencias significativas entre grupos en relación a la variación porcentual del número de linfocitos totales por μ L. Los valores de referencia de esta variable están comprendidos entre $1,5$ y $4,5 \times 10^3/\mu$ L. Entre las visitas 1 y 3 se observó un aumento del 13% en el grupo intervención frente a un aumento del 15% en el grupo control. El aumento porcentual observado entre las visitas 1 y 2 fue la siguiente: 13% para el grupo intervención y 14% para el grupo control.

Figura 17. Concentración media de linfocitos en cada visita por grupo

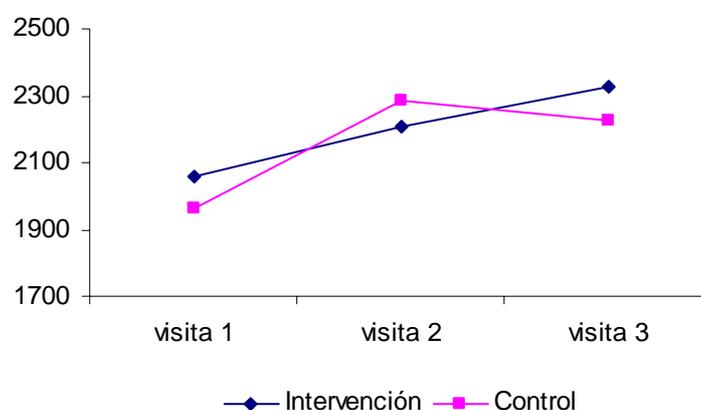


Tabla 18. Número de monocitos por grupo a lo largo del tiempo (n^océlulas/ μ L)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	612,05	431,40	504,29	-180,64	-107,15	73,06	-23,29	-9,34	23,51
DE	266,97	130,05	142,31	231,12	259,49	143,24	25,62	32,68	44,50
Mínimo	249,00	181,00	207,00	-936,00	-1129,00	-215,00	-75,67	-67,08	-44,42
Máximo	1810,00	874,00	848,00	215,00	299,00	472,00	47,57	71,70	227,62
Percentil 25	450,00	336,00	402,00	-304,00	-165,75	-19,25	-41,66	-30,05	-4,11
50	579,00	420,00	501,50	-117,00	-74,50	71,50	-23,29	-16,15	17,54
75	673,00	524,00	609,75	-38,00	41,00	133,00	-7,56	7,17	34,35
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	579,88	441,40	497,90	-138,47	-80,95	64,17	-20,10	-10,31	20,32
DE	164,38	117,41	136,34	154,07	138,10	140,71	24,84	27,94	42,62
Mínimo	212,00	203,00	286,00	-582,00	-381,00	-350,00	-69,88	-57,06	-50,65
Máximo	1230,00	696,00	849,00	176,00	209,00	450,00	59,91	98,58	221,67
Percentil 25	484,00	359,75	380,75	-234,00	-178,50	-26,25	-38,06	-28,71	-6,47
50	563,50	431,00	480,00	-126,00	-81,00	77,00	-23,94	-14,66	19,72
75	663,75	507,75	607,50	-34,50	1,00	139,00	-5,50	,11	31,32
p*	0,866	0,693**	0,825**	0,788	0,800	0,862	0,620	0,823	1,000

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

No existieron diferencias significativas entre grupos en relación a la variación porcentual del número de monocitos totales por μ L. Los valores de referencia de esta variable se encuentran entre 0,15 y $1,2 \times 10^3/\mu$ L. Entre las visitas 1 y 3 se observó una disminución del 16% en el grupo intervención frente a una disminución del 15% en el grupo control. La reducción porcentual observada entre las visitas 1 y 2 fue la siguiente: 23% para el grupo intervención y 24% para el grupo control.

Figura 18. Mediana de la concentración de monocitos en cada visita por grupo

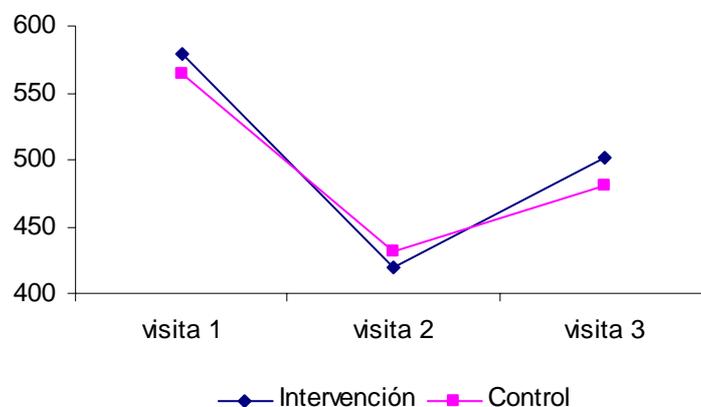


Tabla 19. Número de eosinófilos por grupo a lo largo del tiempo (n°células/ μ L)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	195,01	234,33	207,98	39,32	11,37	-25,91	66,08	52,75	8,13
DE	121,91	131,16	130,67	135,33	129,35	123,12	143,03	153,25	76,33
Mínimo	15,00	26,00	54,00	-279,00	-207,00	-396,00	-82,54	-57,79	-85,90
Máximo	556,00	655,00	686,00	348,00	390,00	319,00	685,71	629,73	296,61
Percentil 25	94,00	140,00	118,00	-41,00	-70,00	-82,25	-21,56	-32,13	-38,16
50	175,00	206,00	174,00	18,00	-5,00	-16,00	15,08	-2,90	-9,44
75	252,00	304,00	262,00	119,00	58,75	46,75	114,59	64,22	33,14
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	269,88	283,73	242,35	13,85	-32,62	-47,65	24,09	5,81	-13,14
DE	156,10	182,63	163,07	138,84	150,75	128,42	80,64	78,15	35,10
Mínimo	44,00	100,00	48,00	-374,00	-363,00	-409,00	-48,95	-76,03	-80,71
Máximo	764,00	931,00	806,00	420,00	377,00	291,00	354,55	272,73	84,35
Percentil 25	154,50	161,25	140,50	-96,00	-137,75	-85,25	-34,29	-46,54	-38,25
50	243,00	224,50	171,50	14,500	-67,50	37,50	9,97	-25,66	-14,70
75	326,750	325,50	350,50	95,50	78,50	11,00	36,99	45,17	6,66
p*	0,009	0,177	0,386	0,486	0,095	0,390	0,221	0,084	0,370

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; DE: desviación estándar

Respecto a la variación porcentual del número de eosinófilos totales por μ L no existieron diferencias significativas entre grupos. Los valores de referencia de esta variable están comprendidos entre 0 y $0,5 \times 10^3 / \mu$ L. Se observó una disminución mayor en el grupo control, cabe destacar que los valores basales de la variable son mayores en este grupo.

Figura 19. Mediana de la concentración de eosinófilos en cada visita por grupo

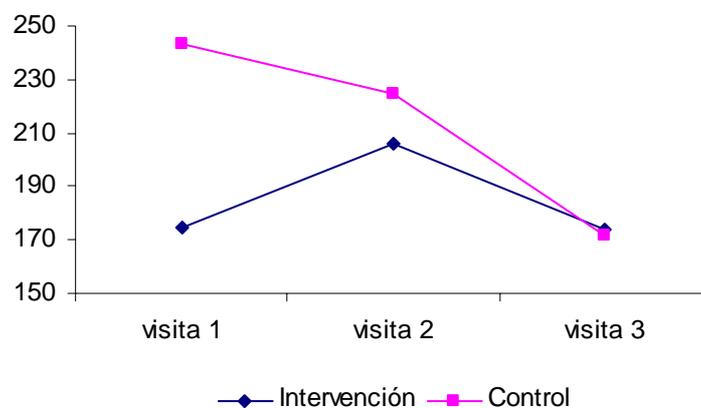


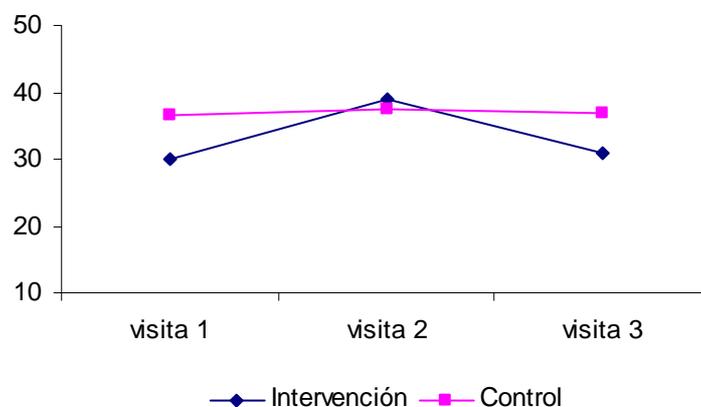
Tabla 20. Número de basófilos por grupo a lo largo del tiempo (n°células/ μ L)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	57	56	56
Perdidos	0	0	1	0	1	1	2	3	3
Media	45,81	46,81	42,00	1,00	-4,24	-4,46	84,35	65,75	45,12
DE	49,67	59,14	34,02	78,29	48,00	65,15	310,54	224,30	201,29
Mínimo	,00	,00	,00	-225,00	-227,00	-395,00	-100,00	-87,98	-100,00
Máximo	258,00	442,00	156,00	423,00	94,00	156,00	2226,32	1320,00	1320,00
Percentil 25	18,00	20,00	16,75	-17,00	-17,25	-21,25	-50,46	-46,78	-52,72
50	30,00	39,00	31,00	1,00	,00	-3,50	,00	,00	-13,76
75	56,00	51,00	53,25	25,00	16,25	22,50	141,73	85,89	73,43
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	35
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	10
Media	41,90	42,92	45,22	1,02	2,07	3,12	96,08	55,61	111,34
DE	25,40	42,04	56,52	50,84	64,13	62,69	483,99	193,60	550,01
Mínimo	4,00	,00	5,00	-92,00	-100,00	-210,00	-100,00	-95,24	-95,89
Máximo	107,00	219,00	369,00	212,00	334,00	277,00	3028,57	954,29	3200,00
Percentil 25	24,50	13,00	22,00	-22,75	-28,50	-19,00	-74,41	-44,85	-38,70
50	36,50	37,50	37,00	-3,50	2,50	4,00	-9,00	8,13	,00
75	57,75	61,25	55,00	24,00	16,00	17,00	87,88	71,25	37,50
p*	0,300	0,699	0,899	0,589	0,831	0,686	0,194	0,780	0,816

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; DE: desviación estándar

No se observó diferencias significativas entre grupos, en relación al número de basófilos totales por μ L. Los valores de referencia de esta variable se encuentran entre 0 y $0,2 \times 10^3/\mu$ L. Se observó una disminución de la variación porcentual entre las visitas 1 y 2 del 9%, sin embargo en el grupo intervención no se observa disminución del número de basófilos.

Figura 20. Mediana de la concentración de basófilos en cada visita por grupo



4.2.4. Inmunoglobulinas

Tabla 21. Niveles de inmunoglobulina G por grupo a lo largo del tiempo (mg/dL)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	805,23	976,42	1091,46	171,18	280,03	113,08	24,29	38,28	19,30
DE	225,276	248,585	247,532	149,43	151,20	184,41	25,07	23,92	64,43
Mínimo	405,00	201,00	623,00	-377,00	-125,00	-413,00	-65,22	-15,59	-37,89
Máximo	1620,00	2040,00	2210,00	433,00	602,00	979,00	103,70	104,15	487,06
Percentil 25	646,00	834,00	961,75	110,00	207,50	17,25	10,89	25,71	2,56
50	775,00	985,00	1110,00	168,00	281,00	120,50	23,62	36,72	12,26
75	957,00	1110,00	1210,00	250,00	401,50	211,50	37,46	55,63	22,30
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	868,76	1057,66	1154,67	188,90	274,80	91,1500	27,68	34,38	9,46
DE	260,75	236,28	287,67	165,48	157,06	178,75	31,49	24,82	19,36
Mínimo	304,00	697,00	652,00	-265,00	-42,00	-280,00	-24,56	-4,49	-29,08
Máximo	1720,00	2010,00	2240,00	537,00	694,00	665,00	176,64	107,43	73,48
Percentil 25	692,25	904,50	935,50	108,25	181,25	-20,00	11,20	21,42	-1,72
50	820,00	1050,00	1145,00	214,00	268,50	93,00	23,76	31,27	8,58
75	1020,00	1170,00	1277,50	290,50	349,50	159,50	37,29	38,33	14,25
p*	0,194**	0,107	0,299	0,430	0,869**	0,236	0,702	0,188	0,124

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

No existieron diferencias significativas entre grupos en la variación porcentual de la concentración de inmunoglobulina G con respecto al nivel basal. Los valores de referencia de esta inmunoglobulina se encuentran entre 615-1655 mg/dL. Se observó un aumento de este parámetro en ambos grupos. El aumento entre las visitas 2 y 3 fue del 12% en el grupo intervención es del 12% y del 9% en el grupo control.

Figura 21. Mediana de la concentración de inmunoglobulina G en cada visita por grupo

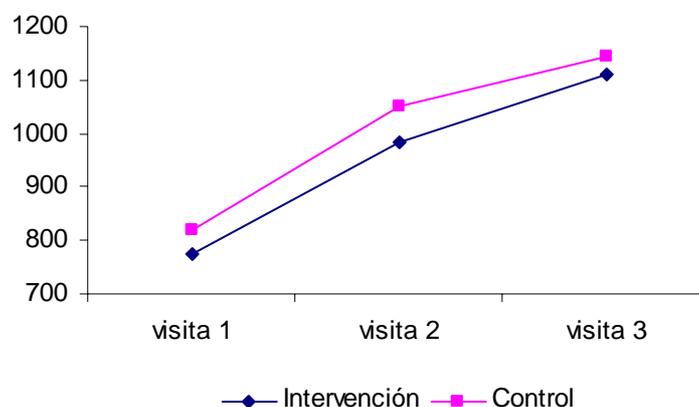


Tabla 22. Niveles de inmunoglobulina G1 por grupo a lo largo del tiempo (mg/dL)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	486,67	595,32	592,70	108,64	103,55	-3,87	29,55	28,39	1,41
DE	171,00	146,33	193,21	116,21	159,13	163,36	33,51	43,22	29,99
Mínimo	143,00	288,00	215,00	-260,00	-326,00	-405,00	-39,22	-49,17	-54,58
Máximo	1270,00	1010,00	1370,00	369,00	451,00	388,00	162,24	189,51	123,96
Percentil 25	382,00	518,00	454,25	51,00	-23,25	-117,00	11,48	-4,28	-18,80
50	478,00	582,00	601,50	122,00	115,00	31,00	22,47	26,62	4,33
75	569,00	678,00	724,250	179,00	213,50	108,25	42,00	46,06	19,78
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	488,23	615,73	657,20	127,50	160,75	34,9500	37,95	48,53	13,30
DE	161,75	172,00	201,62	130,95	181,53	208,06	70,89	99,42	55,57
Mínimo	99,90	194,00	423,00	-370,00	-222,00	-424,00	-65,60	-30,79	-45,94
Máximo	830,00	987,00	1530,00	451,10	801,00	783,00	451,55	624,72	302,58
Percentil 25	359,25	503,25	489,25	65,25	47,2500	-74,75	14,09	7,53	-10,91
50	472,50	616,00	622,00	123,50	152,00	-5,00	25,38	32,54	-89
75	585,75	737,500	789,25	202,00	224,50	119,00	47,63	58,11	17,50
p*	0,963**	0,522**	0,114**	0,547	0,236	0,662	0,674	0,259	0,539

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

No existieron diferencias significativas entre grupos en a la variación porcentual de la concentración de Inmunoglobulina G1 con respecto al nivel basal. Los valores de referencia de la Inmunoglobulina G1 se encuentran entre 155 y 1292 mg/dL. Se observó un aumento de este parámetro en ambos grupos. Sin embargo, entre las visitas 2 y 3 encontramos un aumento de aproximadamente el 4% en el grupo de intervención, mientras que en el grupo control disminuye.

Figura 22. Concentración media de inmunoglobulina G1 en cada visita por grupo

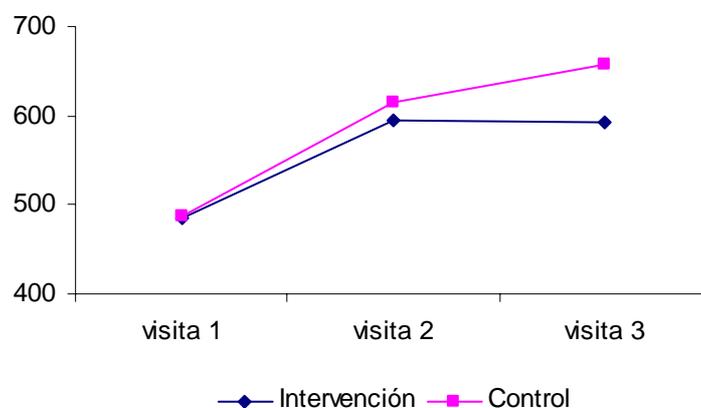


Tabla 23. Niveles de inmunoglobulina G2 por grupo a lo largo del tiempo (mg/dl)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	232,59	291,40	318,46	58,81	84,15	25,48	30,61	40,74	10,29
DE	87,74	93,22	128,12	60,69	88,39	86,75	34,24	44,01	29,97
Mínimo	97,80	109,00	113,00	-157,00	-90,00	-166,00	-31,21	-32,03	-46,50
Máximo	503,00	523,00	651,00	208,00	328,00	293,00	204,70	209,82	99,12
Percentil 25	169,00	229,00	216,75	32,00	11,50	-25,50	12,56	4,77	-8,20
50	215,00	280,00	302,50	62,00	76,50	37,50	27,04	37,10	14,22
75	268,00	356,00	413,75	85,00	143,00	62,75	43,12	59,91	24,44
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	251,72	338,50	361,77	86,77	105,74	19,72	47,08	55,27	8,03
DE	102,10	131,69	142,30	70,31	110,69	100,85	94,64	102,50	32,34
Mínimo	44,40	131,00	124,00	-26,00	-120,00	-268,00	-9,52	-42,86	-51,81
Máximo	702,00	863,00	677,00	277,60	332,00	336,00	625,23	643,24	136,03
Percentil 25	193,75	242,25	252,75	30,75	35,25	-32,50	16,72	16,91	-8,74
50	233,00	323,00	337,00	75,00	92,50	18,00	32,69	40,44	5,65
75	289,75	408,25	451,25	135,50	169,75	68,00	48,60	68,74	19,70
p*	0,193	0,086	0,119**	0,147	0,287**	0,763	0,349	0,691	0,457

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

No se observaron diferencias significativas entre grupos en la variación porcentual de la concentración de Inmunoglobulina G2 con respecto al nivel basal. Los valores de referencia de esta variable están comprendidos entre 44 y 747 mg/dL. Se observó un aumento de este parámetro en ambos grupos, sin embargo el aumento es ligeramente menor en el grupo intervención.

Figura 23. Mediana de la concentración de inmunoglobulina G2 en cada visita por grupo

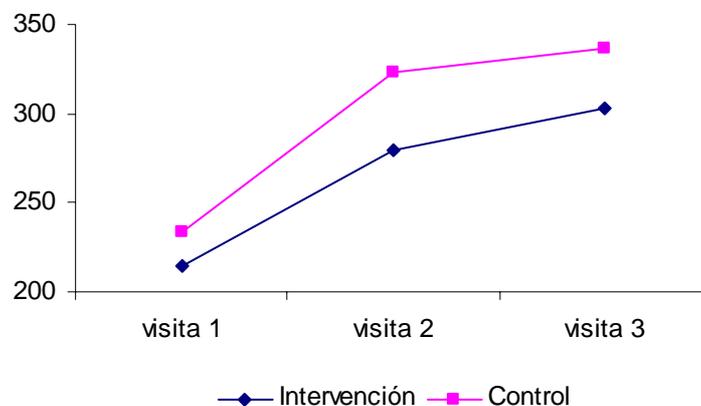


Tabla 24. Niveles de inmunoglobulina G3 por grupo a lo largo del tiempo (mg/dL)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	31,72	37,83	40,56	6,10	8,55	2,53	30,68	36,12	7,54
DE	19,22	19,24	25,24	9,59	13,62	16,19	41,75	51,96	33,79
Mínimo	4,80	7,95	7,74	-22,60	-28,40	-44,60	-33,43	-51,73	-55,39
Máximo	83,60	97,10	122,00	34,30	40,60	55,20	217,60	241,48	106,47
Percentil 25	14,70	24,50	20,72	2,00	-1,65	-5,35	7,58	-8,42	-19,60
50	28,10	32,70	34,85	4,69	8,15	2,45	18,43	31,26	9,27
75	43,80	54,80	56,07	12,00	16,00	9,35	44,98	62,78	32,29
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	29,70	37,35	36,07	7,65	5,93	-1,68	31,77	28,55	2,65
DE	12,09	14,62	13,56	10,00	12,20	11,52	38,30	49,06	45,87
Mínimo	6,65	9,21	10,50	-23,80	-16,70	-28,60	-66,30	-41,36	-52,44
Máximo	55,10	69,20	60,60	32,80	29,60	25,70	164,89	146,28	209,92
Percentil 25	20,55	28,30	28,12	2,45	-1,52	-7,75	12,43	-2,98	-22,08
50	29,80	37,70	38,20	6,40	3,85	-0,70	26,01	21,73	-2,54
75	38,55	47,35	45,32	11,77	13,32	5,15	49,48	42,67	18,53
p*	0,915	0,874	0,828	0,589	0,331**	0,159**	0,504	0,333	0,144

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

No existieron diferencias significativas entre grupos en la variación porcentual de la concentración de Inmunoglobulina G3 con respecto al nivel basal. Los valores de referencia de esta variable se encuentran entre 41 y 209 mg/dL. Se observó que entre la visita 2 y la visita 3 este parámetro aumenta un 9% en el grupo intervención, mientras que el grupo control disminuye un 3%.

Figura 24. Mediana de la concentración de inmunoglobulina G3 en cada visita por grupo

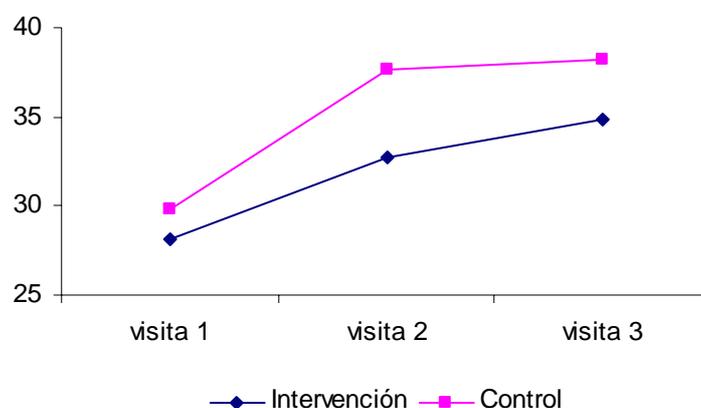


Tabla 25. Niveles de inmunoglobulina G4 por grupo a lo largo del tiempo (mg/dL)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	27,19	29,40	32,62	2,20	5,15	2,92	85,37	615,08	1018,95
DE	21,16	25,50	31,30	12,42	20,77	22,02	432,34	2669,39	3350,98
Mínimo	0,08	0,17	0,10	-59,88	-53,24	-61,82	-99,30	-98,84	-98,88
Máximo	106,00	115,00	166,00	30,00	92,00	62,00	2887,50	14348,2	14304,7
Percentil 25	12,20	11,20	10,17	-0,1200	-1,65	-8,00	-1,39	-7,53	-22,54
50	21,80	23,20	24,00	3,60	1,80	0,35	15,92	6,39	0,99
75	38,10	38,90	48,70	7,40	13,08	10,89	36,61	51,68	41,93
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	35,62	41,56	46,56	5,93	10,31	4,41	196,03	500,40	771,52
DE	24,13	34,31	39,01	23,20	28,63	28,52	1124,40	2077,15	2441,18
Mínimo	0,10	0,12	0,54	-79,84	-74,27	-104,77	-99,04	-98,60	-98,84
Máximo	102,00	131,00	190,00	52,90	117,30	76,00	7300,00	10500,0	10442,7
Percentil 25	17,85	18,00	19,22	1,27	1,00	-2,80	8,21	6,88	-10,26
50	29,40	30,80	35,05	6,30	7,85	2,80	21,99	30,14	13,98
75	53,10	54,45	67,80	13,22	22,10	11,90	41,00	70,18	26,91
p*	0,064	0,072	0,037	0,041	0,056	0,322	0,154	0,113	0,270

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; DE: desviación estándar

No se detectaron diferencias significativas entre grupos en la variación porcentual de la concentración de Inmunoglobulina G4 con respecto al nivel basal. Los valores de referencia de esta variable se encuentran entre 1 y 291 mg/dL. Se observó un aumento de este parámetro en ambos grupos, aunque entre las visitas 2 y 3 el aumento fue mayor en el grupo control (13%) mientras que en el grupo intervención fue del 1%.

Figura 25. Mediana de la concentración de inmunoglobulina G4 en cada visita por grupo

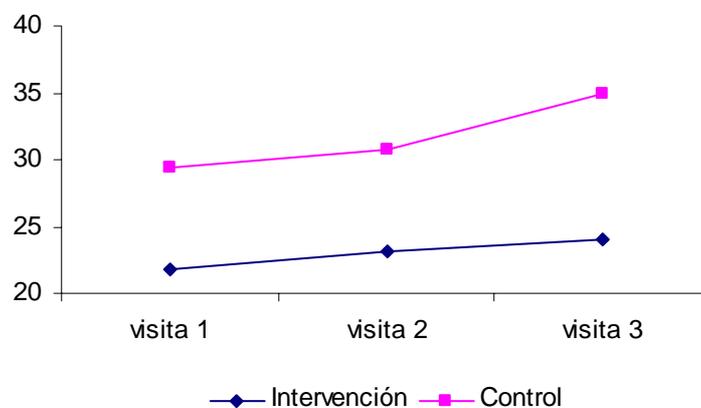


Tabla 26. Niveles de inmunoglobulina A por grupo a lo largo del tiempo (mg/dl)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	168,30	210,65	197,61	42,35	27,67	-14,36	28,16	20,00	-1,69
DE	66,17	81,180	80,28	36,72	43,97	35,471	32,88	35,27	47,30
Mínimo	25,40	25,40	25,40	-46,90	-75,60	-114,60	-56,92	-44,47	-54,83
Máximo	362,00	453,00	461,00	163,00	137,70	119,50	195,93	193,13	336,62
Percentil 25	122,00	158,00	146,00	18,00	-4,50	-36,50	9,25	-2,70	-16,92
50	164,00	205,00	180,00	37,00	23,45	-12,00	22,06	19,34	-5,14
75	206,00	256,00	242,25	64,00	57,00	2,25	45,63	29,84	1,33
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	193,03	238,83	216,92	45,80	21,90	-21,08	29,16	14,63	-8,23
DE	75,48	77,20	77,02	39,21	49,43	45,36	32,77	27,58	17,66
Mínimo	25,40	22,10	22,10	-44,00	-155,00	-158,00	-13,84	-41,11	-48,87
Máximo	377,00	471,00	366,00	170,50	157,00	123,00	173,10	91,53	57,48
Percentil 25	131,00	191,25	178,00	25,50	-7,25	-44,50	9,20	-4,17	-19,85
50	180,50	226,50	219,50	38,00	23,00	-13,50	23,61	12,76	-5,88
75	252,75	293,00	285,25	68,00	55,50	-0,25	38,61	28,44	-0,08
p*	0,084**	0,082**	0,237**	0,653**	0,545**	0,556	0,836	0,435	0,504

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

En la variación porcentual de la concentración de Inmunoglobulina A con respecto al nivel basal no se observaron diferencias significativas entre grupos. Los valores de referencia de esta variable están comprendidos entre 68 y 382 mg/dL. Se observó un aumento de este parámetro en ambos grupos: 19% y 13% en el grupo intervención y control respectivamente.

Figura 26. Concentración media de inmunoglobulina A en cada visita por grupo

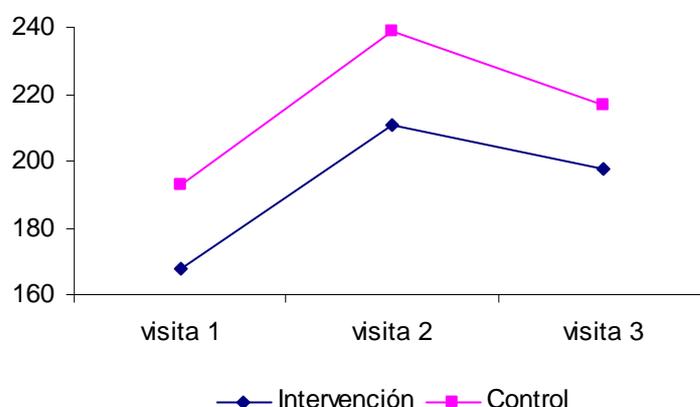


Tabla 27. Niveles de inmunoglobulina M por grupo a lo largo del tiempo (mg/dL)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	127,12	154,58	146,92	27,46	18,73	-8,58	25,74	22,11	3,42
DE	60,06	70,216	57,58	33,63	34,56	35,15	31,52	36,16	59,78
Mínimo	28,50	27,40	45,60	-44,00	-57,00	-137,00	-61,57	-40,97	-50,97
Máximo	307,00	411,00	298,00	144,00	155,00	116,60	129,73	140,73	425,55
Percentil 25	84,700	112,00	107,50	10,20	-2,500	-20,50	10,89	-1,27	-13,11
50	122,00	145,00	143,50	25,00	13,80	-7,50	21,37	14,90	-5,91
75	155,00	192,00	182,50	38,00	40,30	6,92	36,47	39,40	5,31
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	120,14	155,78	139,54	35,64	17,04	-17,73	31,79	17,15	-9,08
DE	53,37	71,67	60,28	34,70	31,61	28,14	29,75	30,21	17,83
Mínimo	48,50	56,30	43,50	-30,00	-63,50	-99,00	-19,35	-59,35	-63,75
Máximo	254,00	361,00	292,00	158,00	100,00	37,80	147,14	99,41	38,89
Percentil 25	70,85	98,65	84,45	11,17	-1,00	-35,25	12,19	-1,45	-18,85
50	109,50	151,00	141,50	30,55	16,25	-13,50	26,48	15,20	-9,38
75	157,00	203,75	180,25	52,12	38,75	2,50	43,36	31,66	1,54
p*	0,586	0,933**	0,542**	0,239	0,806**	0,139	0,292	0,879	0,148

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

En la variación porcentual de la concentración de Inmunoglobulina M con respecto al nivel basal no existieron diferencias significativas entre grupos. Los valores de referencia de esta variable se encuentran entre 63 y 277 mg/dL. Se observó entre las visitas 2 y 3 una disminución de este parámetro del 9% en el grupo control y de 6% en el grupo intervención.

Figura 27. Mediana de la concentración de inmunoglobulina M en cada visita por grupo

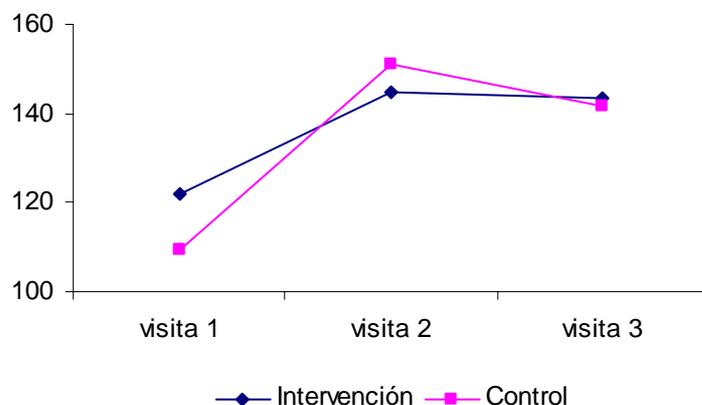


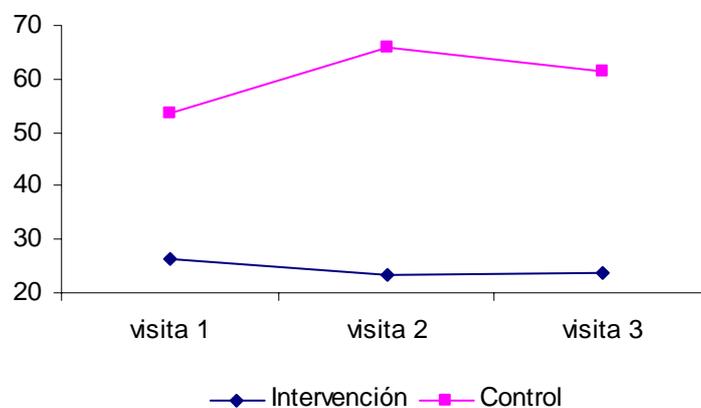
Tabla 28. Niveles de inmunoglobulina E por grupo a lo largo del tiempo (UI/mL)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	58,34	54,10	47,75	-4,23	-11,36	-7,01	1,57	10,53	17,14
DE	71,05	67,03	55,35	24,11	32,59	20,25	63,71	128,70	128,95
Mínimo	4,41	4,41	4,41	-94,00	-176,00	-95,00	-74,94	-74,94	-80,48
Máximo	321,00	256,00	231,00	81,00	38,89	38,89	423,81	862,31	862,31
Percentil 25	11,80	13,20	12,42	-10,60	-17,50	-8,22	-25,23	-36,89	-24,57
50	26,40	23,50	23,80	-1,70	-4,75	-1,36	-3,54	-11,19	-6,99
75	73,40	70,80	59,40	2,20	1,67	0,97	10,54	9,01	3,66
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	121,56	118,17	99,62	-3,38	-24,27	-14,70	8,16	46,58	45,34
DE	135,26	129,33	112,50	52,00	54,07	38,34	58,76	368,03	368,96
Mínimo	4,41	4,41	4,41	-127,00	-199,00	-106,00	-51,36	-85,21	-86,17
Máximo	507,00	476,00	441,00	239,00	136,05	136,11	298,19	2286,55	2310,87
Percentil 25	18,72	20,62	17,67	-16,87	-36,12	-28,06	-17,54	-39,54	-26,79
50	53,60	65,95	61,65	-0,03	-12,59	-7,45	-0,23	-18,53	-10,63
75	165,00	193,00	142,75	6,75	0,15	0,00	9,68	0,82	0,00
p*	0,008	0,002	0,010	0,997	0,083	0,015	0,478	0,338	0,204

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; DE: desviación estándar

No existieron diferencias significativas entre grupos en la variación porcentual de la concentración de Inmunoglobulina E con respecto al nivel basal. Los valores de referencia de esta variable se encuentran por debajo de 100 UI/mL. Se observaron diferencias entre grupos en el nivel basal de la variable. Los valores hallados en el grupo control fueron mayores que los valores detectados en el grupo intervención.

Figura 28. Mediana de la concentración de inmunoglobulina E en cada visita por grupo



4.2.5. Factores de sistema complemento

Tabla 29. Niveles de complemento C3 por grupo a lo largo del tiempo (mg/dl)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	137,09	124,97	109,52	-12,11	-28,10	-15,08	-5,91	-17,32	-7,99
DE	28,49	22,311	17,38	28,00	29,69	24,11	22,58	20,95	40,24
Mínimo	68,80	42,10	70,60	-72,90	-83,00	-65,00	-63,39	-48,24	-36,96
Máximo	208,00	195,00	160,00	54,00	45,00	117,90	72,97	46,80	280,05
Percentil 25	117,00	113,00	95,75	-29,00	-48,35	-27,50	-17,91	-33,14	-21,06
50	134,00	122,00	112,50	-11,00	-31,00	-16,50	-8,33	-20,09	-13,29
75	162,00	139,00	120,00	6,00	-7,60	-5,00	4,34	-6,76	-4,42
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	137,8	130,93	112,51	-6,95	-26,32	-17,36	-0,98	-16,82	-12,01
DE	29,93	21,99	20,79	31,61	27,51	22,42	26,78	17,70	17,51
Mínimo	70,70	91,20	78,90	-73,00	-102,00	-66,20	-38,07	-48,57	-44,43
Máximo	210,00	177,00	159,00	66,30	22,70	46,30	93,78	26,61	48,89
Percentil 25	119,25	112,25	97,62	-32,50	-45,00	-32,00	-20,60	-30,78	-22,34
50	137,50	132,50	108,00	-6,35	-24,00	-20,50	-5,51	-17,75	-16,13
75	159,00	147,25	129,75	8,25	-7,55	-2,25	7,40	-6,63	-1,94
p*	0,893**	0,170	0,441**	0,389**	0,764**	0,588	0,448	0,670	0,686

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

En la variación porcentual de la concentración de Complemento C3 no existieron diferencias significativas entre grupos con respecto al nivel basal. Los valores de referencia de esta variable se encuentran comprendidos entre 85 y 193 mg/dl. Se observó una disminución de este parámetro en ambos grupos.

Figura 29. Mediana de la concentración de Complemento C3 en cada visita por grupo

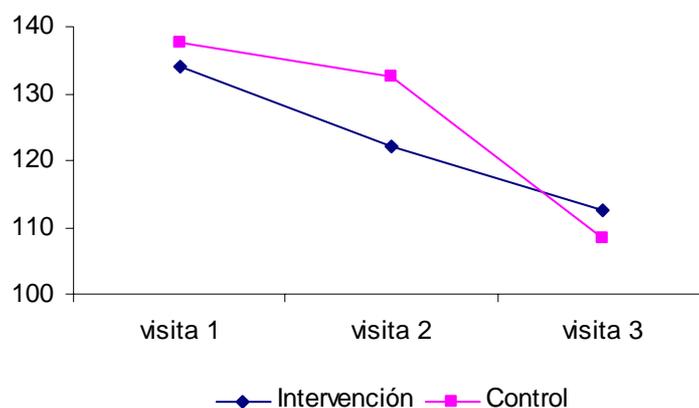


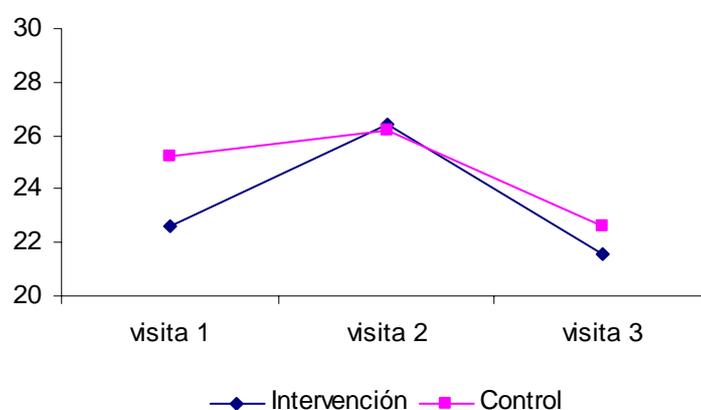
Tabla 30. Niveles de complemento C4 por grupo a lo largo del tiempo (mg/dL)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	24,96	27,11	22,45	2,14	-2,60	-4,52	15,76	-4,32	-10,89
DE	8,82	8,701	6,32	7,62	6,58	6,25	40,86	29,68	42,16
Mínimo	8,97	7,67	5,46	-13,18	-20,50	-20,50	-62,17	-56,67	-51,01
Máximo	45,50	48,40	42,20	21,60	9,50	20,28	175,36	92,87	252,87
Percentil 25	18,60	21,50	17,67	-4,20	-7,15	-7,32	-12,53	-24,34	-26,71
50	22,60	26,40	21,65	2,00	-2,40	-4,50	8,77	-9,82	-18,63
75	32,00	30,70	26,72	7,70	1,92	-1,60	38,31	8,46	-7,09
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	26,03	27,73	23,60	1,69	-3,16	-4,52	17,44	-5,39	-13,52
DE	10,21	8,84	7,71	8,49	8,99	7,02	48,13	32,58	22,01
Mínimo	6,35	13,80	11,20	-13,00	-33,50	-25,50	-41,95	-62,73	-60,56
Máximo	53,40	53,10	44,00	22,30	18,60	9,60	237,01	92,08	39,86
Percentil 25	17,07	21,37	17,95	-4,97	-8,05	-8,70	-15,99	-31,85	-27,71
50	25,25	26,25	22,60	1,95	-2,35	-3,10	10,51	-10,08	-12,49
75	32,57	32,65	28,37	7,52	3,12	-0,35	32,39	13,00	-1,36
p*	0,694	0,915	0,421**	0,781**	0,724**	0,295	0,948	0,767	0,310

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

No existieron diferencias significativas entre grupos en la variación porcentual de la concentración de Complemento C4 con respecto al nivel basal. Los valores de referencia de esta variable se encuentran entre 12 y 36 mg/dL. Se observó una disminución de este parámetro en ambos grupos.

Figura 30. Mediana de la concentración de Complemento C4 en cada visita por grupo



4.2.6. Parámetros hematológicos

Tabla 31. Número de leucocitos por grupo a lo largo del tiempo (n^océlulas/ μ L)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	10139,4	7204,9	6586,3	-2934,5	-3391,7	-575,3	-25,40	-30,05	-3,99
DE	3099,8	2010,97	1449,4	3092,7	3040,0	2297,6	21,91	20,81	26,42
Mínimo	5780,0	3740,0	3060,0	-11780,0	-13230,0	-11820,0	-64,37	-72,30	-64,95
Máximo	19500,0	18200,0	12100,0	7600,0	1090,0	4880,0	71,70	14,08	75,59
Percentil 25	7780,0	6280,0	5655,0	-4450,0	-4907,5	-1485,0	-40,33	-45,43	-21,35
50	9180,0	6820,0	6420,0	-2600,0	-2785,0	-540,0	-27,80	-30,84	-7,80
75	11400,0	7690,0	7195,0	-1100,0	-1447,5	480,0	-12,41	-17,16	6,89
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	9694,2	7253,0	6548,3	-2441,1	-3200,4	-686,1	-22,67	-30,39	-7,37
DE	2265,2	1597,4	1460,3	2251,9	2297,0	1642,0	19,11	17,94	19,68
Mínimo	6130,0	4290,0	4260,0	-8950,0	-9510,0	-5180,0	-59,27	-63,40	-47,96
Máximo	15200,0	11400,0	9680,0	2380,0	180,0	1900,0	26,39	2,26	29,50
Percentil 25	7947,5	6165,0	5507,5	-3830,0	-4640,0	-1590,0	-37,34	-40,00	-21,10
50	9455,0	7015,0	6415,0	-2350,0	-3010,0	-495,0	-24,86	-31,98	-7,56
75	10950,0	8057,5	7517,5	-967,5	-1570,0	205,0	-10,56	-19,19	3,68
p*	0,844	0,746	0,795	0,540	0,737**	0,917	0,482	0,932**	0,857

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

No existieron diferencias significativas entre grupos en la variación porcentual del número de leucocitos totales por μ L. Los valores de referencia de esta variable se comprenden entre 3 y $11 \times 10^3/\mu$ L. Entre la visitas 1 y 3 se detectó una disminución de este parámetro del 31% en el grupo intervención y del 32% en el grupo control. La reducción porcentual observada entre las visitas 1 y 2 fue del 28% para el grupo intervención y del 25% para el grupo control.

Figura 31. Mediana del número de leucocitos en cada visita por grupo

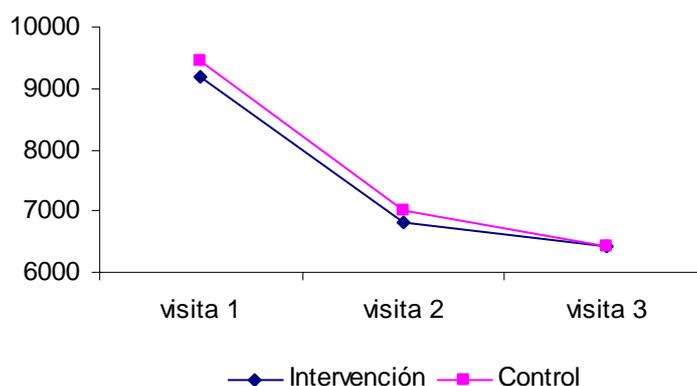


Tabla 32. Número de hematías por grupo a lo largo del tiempo ($10^6/\mu\text{L}$)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	3,70	4,21	4,33	0,50	0,62	0,12	14,47	18,37	3,50
DE	0,45	0,38	,318	0,35	0,47	0,30	10,60	14,43	7,740
Mínimo	2,58	3,33	3,53	-0,59	-0,71	-0,51	-11,71	-14,09	-11,26
Máximo	5,04	4,96	5,01	1,17	1,41	0,84	45,35	54,65	21,92
Percentil 25	3,43	3,90	4,07	0,28	0,34	-0,07	6,79	8,36	-1,54
50	3,68	4,33	4,34	0,47	0,65	0,13	13,54	18,56	3,03
75	4,00	4,49	4,55	0,77	1,00	0,37	23,79	28,46	8,95
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	3,82	4,21	4,29	0,39	0,46	0,07	11,72	14,79	2,35
DE	0,54	0,37	0,25	0,37	0,56	0,37	11,60	19,67	9,56
Mínimo	2,37	3,41	3,70	-0,67	-0,47	-0,50	-14,26	-10,11	-10,35
Máximo	4,81	5,24	4,77	1,09	1,87	0,86	43,88	78,48	24,29
Percentil 25	3,60	3,99	4,10	0,14	0,06	-0,25	3,51	1,71	-5,53
50	3,86	4,26	4,29	0,38	0,42	0,10	10,20	10,60	2,41
75	4,14	4,44	4,45	0,71	0,78	0,30	19,65	21,78	7,59
p*	0,254**	0,890	0,457**	0,151**	0,139**	0,408**	0,218**	0,041	0,512**

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

La variación porcentual del número de hematías entre los valores basales de la variable (visita 1) y la visita final (visita 3) aumenta en ambos grupos: 19% en el grupo intervención y 11% en el grupo control. Se observó que esta diferencia era estadísticamente significativa. Los valores de referencia de esta variable están comprendidos entre $3,5$ y $5 \times 10^6/\mu\text{L}$.

Figura 32. Mediana del número de hematías en cada visita por grupo

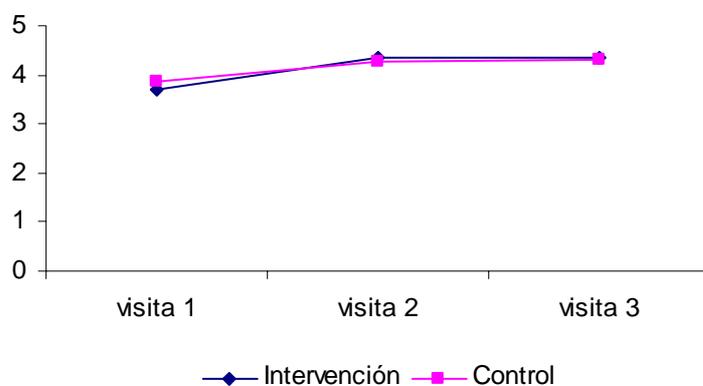


Tabla 33. Concentración de hemoglobina por grupo a lo largo del tiempo (g/dL)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	11,32	12,69	12,86	1,36	1,52	0,17	12,92	14,76	1,83
DE	1,44	1,24	0,98	1,02	1,23	0,91	10,66	12,87	7,41
Mínimo	6,83	9,71	10,10	-1,00	-1,00	-2,00	-7,09	-7,09	-15,75
Máximo	14,90	15,10	15,00	4,68	4,88	2,60	52,47	54,71	23,85
Percentil 25	10,40	11,90	12,40	0,76	0,80	-0,40	7,42	6,40	-2,96
50	11,10	12,60	12,90	1,32	1,55	0,05	11,00	14,25	0,38
75	12,30	13,50	13,62	2,00	2,25	0,82	18,11	21,71	7,51
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	11,41	12,69	12,82	1,28	1,39	0,09	12,53	14,37	1,19
DE	1,70	1,23	0,84	1,045	1,477	0,81	10,94	16,70	6,76
Mínimo	7,83	9,35	9,16	-1,30	-1,60	-1,30	-9,03	-10,67	-9,03
Máximo	15,00	14,90	13,90	3,13	5,17	2,30	38,79	66,03	21,50
Percentil 25	10,60	11,77	12,30	0,60	0,46	-0,57	5,15	4,58	-4,05
50	11,45	12,95	12,90	1,35	1,15	0,00	11,57	9,30	0,00
75	12,52	13,60	13,47	2,22	2,10	0,60	20,21	19,71	5,00
p*	0,567	0,977**	0,767	0,703**	0,627**	0,652**	0,783	0,406	0,668**

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

No existieron diferencias significativas entre grupos en la variación porcentual de la concentración de hemoglobina. Se observó un aumento en la concentración de hemoglobina en ambos grupos y en ambas visitas, lo que es lógico esperar tras la recuperación posparto. Los valores de referencia de esta variable están comprendidos entre 12 y 517g/dL.

Figura 33. Mediana de la concentración de hemoglobina en cada visita por grupo

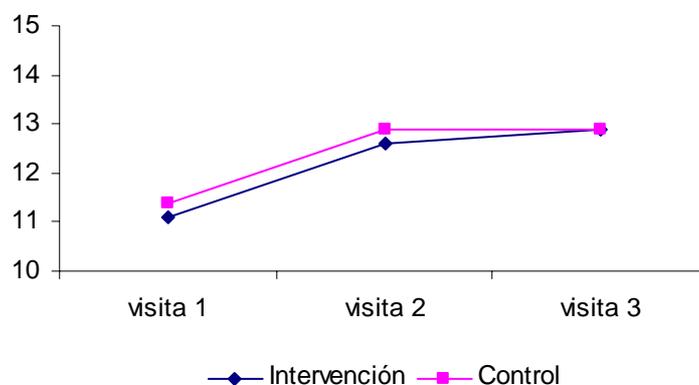


Tabla 34. Niveles de hematocrito por grupo a lo largo del tiempo (%)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	33,62	38,11	38,38	4,48	4,72	0,28	14,50	15,71	1,14
DE	4,48	3,40	2,99	3,38	4,45	2,85	11,66	15,11	7,69
Mínimo	19,60	30,50	31,30	-4,50	-6,30	-5,60	-10,28	-14,29	-13,30
Máximo	44,10	44,80	43,60	10,90	12,60	6,40	55,61	59,69	19,33
Percentil 25	30,40	36,20	36,40	2,20	1,95	-1,45	6,38	5,29	-3,38
50	33,20	38,30	38,20	4,90	5,50	0,35	14,39	15,52	0,96
75	36,20	39,80	40,32	7,00	8,00	2,35	23,27	26,64	6,69
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	34,29	37,90	38,00	3,60	3,63	0,01	11,69	12,83	0,73
DE	4,89	3,64	2,50	3,38	4,98	3,57	11,05	18,23	9,73
Mínimo	21,70	29,10	28,40	-6,50	-5,40	-6,30	-14,25	-12,62	-14,65
Máximo	45,60	45,40	42,10	9,10	16,50	7,40	41,94	76,04	24,03
Percentil 25	32,02	35,15	36,90	1,32	0,72	-3,10	3,93	1,95	-7,31
50	33,80	38,45	38,00	4,00	3,20	0,60	10,78	9,13	1,54
75	37,67	40,55	39,85	6,32	7,15	2,00	19,82	22,24	5,77
p*	0,480**	0,766**	0,511**	0,201**	0,259**	0,676**	0,227**	0,167	0,817**

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

No existieron diferencias significativas entre grupos en la variación porcentual del hematocrito. Se observó un aumento de este parámetro en ambos grupos y en ambas visitas, lo que es lógico esperar tras la recuperación posparto, sin embargo, el aumento fue mayor en el grupo intervención (16% y 9% en el grupo intervención y control respectivamente). Los valores de referencia de esta variable están comprendidos entre 36 y 50%.

Figura 34. Nivel medio de hematocrito en cada visita por grupo

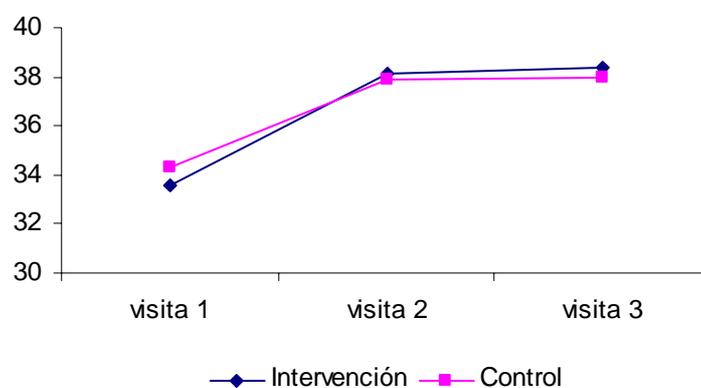


Tabla 35. Volumen corpuscular medio (VCM) por grupo a lo largo del tiempo (fl)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	90,71	90,62	88,56	-0,08	-2,15	-2,07	-0,03	-2,31	-2,28
DE	5,24	4,61	4,75	1,67	2,25	1,63	1,92	2,46	1,81
Mínimo	75,90	79,30	77,30	-5,50	-8,20	-9,20	-5,76	-8,59	-10,50
Máximo	99,70	99,10	97,40	5,50	2,60	0,50	7,25	3,43	0,57
Percentil 25	87,50	87,60	85,77	-1,00	-3,70	-2,72	-1,05	-3,86	-2,86
50	91,50	90,30	88,50	0,10	-1,90	-1,70	0,10	-2,17	-1,92
75	94,30	93,60	91,52	0,60	-0,57	-1,00	0,70	-0,65	-1,19
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	89,60	89,98	88,67	0,37	-1,07	-1,46	0,43	-1,12	-1,56
DE	6,13	6,18	5,57	1,33	2,24	1,88	1,47	2,49	2,06
Mínimo	67,30	67,20	67,55	-1,90	-5,20	-4,80	-2,21	-5,46	-5,20
Máximo	100,00	101,00	100,00	3,60	3,80	4,10	3,80	4,18	4,28
Percentil 25	86,35	87,55	85,72	-0,62	-2,70	-2,40	-0,69	-2,94	-2,60
50	91,35	90,85	89,45	0,00	-0,70	-1,60	0,00	-0,78	-1,74
75	93,52	93,85	91,85	1,50	0,05	-0,55	1,62	0,05	-0,60
p*	0,513	0,959	0,914**	0,186	0,022**	0,313	0,205	0,021**	0,319

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

Las determinaciones realizadas en las 3 visitas se encontraron dentro de los valores de referencia (80-100fl).

Figura 35. Mediana del volumen corpuscular medio en cada visita por grupo

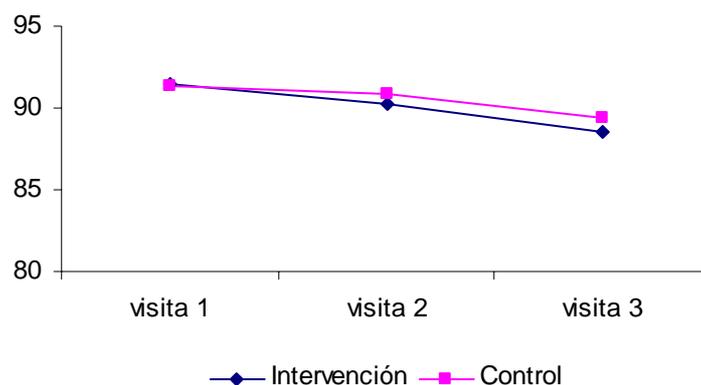


Tabla 36. Niveles de hemoglobina corpuscular media (HCM) por grupo a lo largo del tiempo (pg)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2	
Intervención										
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58	
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1	
Media	30,62	30,20	29,71	-0,42	-0,92	-0,50	-66,72	-67,24	-1,50	
DE	2,56	2,30	2,06	1,32	1,94	1,59	1,30	1,17	5,25	
Mínimo	24,20	24,60	23,60	-3,10	-5,00	-3,60	-69,53	-69,81	-9,92	
Máximo	36,40	36,30	33,30	4,30	3,90	3,10	-63,59	-64,19	10,65	
Percentil 25	28,70	28,60	28,20	-1,40	-2,30	-1,52	-67,64	-67,94	-5,13	
50	30,20	30,20	30,20	-0,30	-0,90	-0,90	-66,74	-67,46	-3,06	
75	32,50	31,80	30,82	0,30	0,27	0,40	-65,99	-66,33	1,40	
Control										
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40	
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5	
Media	29,95	30,20	29,96	0,24	-0,05	-0,31	-66,31	-66,60	-0,77	
DE	2,52	2,65	2,33	1,31	1,74	1,81	1,59	1,49	5,91	
Mínimo	20,00	21,60	21,80	-1,60	-2,90	-4,40	-69,15	-69,62	-12,98	
Máximo	34,40	34,80	33,80	3,50	3,10	3,60	-62,78	-63,35	11,92	
Percentil 25	28,80	29,07	28,65	-0,82	-1,60	-1,82	-67,79	-67,55	-5,47	
50	30,60	30,60	30,50	0,15	-0,15	-0,40	-66,25	-66,63	-1,27	
75	31,72	32,02	31,55	1,20	1,47	1,12	-65,47	-65,69	3,50	
p*	0,200**	0,572	0,426	0,015**	0,025**	0,532	0,160**	0,020	0,504	

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

Las determinaciones realizadas en las 3 visitas se encontraron dentro de los valores de referencia (27 y 33 pg).

Figura 36. Mediana de los niveles de hemoglobina corpuscular media en cada visita por grupo

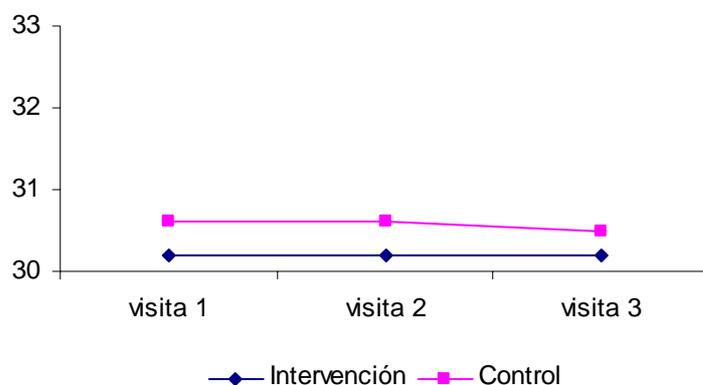


Tabla 37. Concentración de hemoglobina corpuscular media CHCM por grupo a lo largo del tiempo (g/dL)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	33,75	33,30	33,55	-0,45	-0,21	0,23	-1,18	-0,36	0,87
DE	1,72	1,41	1,39	1,61	2,27	1,98	4,86	6,91	6,12
Mínimo	28,30	30,70	30,50	-4,80	-5,40	-2,70	-13,37	-15,04	-7,30
Máximo	36,90	37,00	36,80	4,10	7,10	5,00	14,49	23,91	16,13
Percentil 25	32,90	32,20	32,50	-1,40	-1,70	-0,92	-4,04	-4,71	-2,81
50	33,70	33,30	33,55	-0,40	-0,65	-0,40	-1,22	-1,91	-1,23
75	34,80	34,20	34,42	0,40	1,25	1,15	1,23	3,74	3,60
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	33,40	33,56	33,78	0,15	0,37	0,19	0,54	1,29	0,76
DE	1,40	1,54	1,65	1,52	2,15	2,04	4,59	6,46	6,21
Mínimo	29,70	30,50	30,40	-2,50	-3,20	-3,90	-6,91	-9,12	-11,37
Máximo	36,20	37,80	38,30	4,20	5,10	5,30	12,50	15,89	16,61
Percentil 25	32,27	32,17	32,32	-1,20	-1,80	-1,10	-3,53	-5,13	-3,30
50	33,40	33,70	33,85	0,20	0,30	-0,15	0,58	0,91	-0,44
75	34,30	34,62	34,97	1,30	1,67	1,70	3,88	5,03	5,28
p*	0,285**	0,379**	0,457**	0,059**	0,299**	0,951	0,074**	0,233**	0,940

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

Las determinaciones realizadas en las 3 visitas se encontraron dentro de los valores de referencia (32 y 35 g/dL). Si la CHCM es menor de 30 g/dL tenemos una anemia hipocrómica, pero su mayor utilidad es cuando está aumentada, mayor de 36 g/dL, porque es muy característico de la esferocitosis hereditaria.

Figura 37. Niveles medios de la concentración de hemoglobina corpuscular media en cada visita por grupo

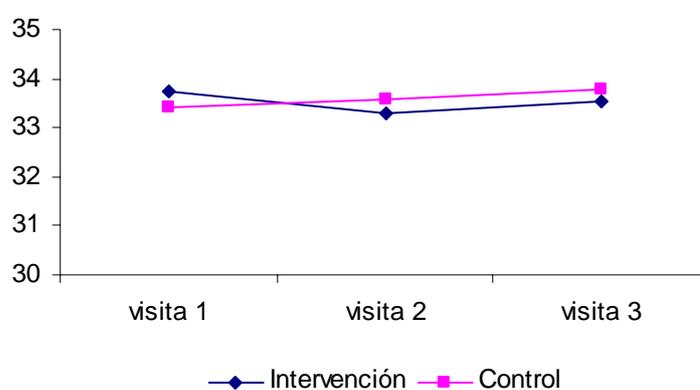


Tabla 38. Amplitud de distribución eritrocitaria (ADE) por grupo a lo largo del tiempo (%)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	58	59	58	58	59	58	58
Perdidos	0	0	1	0	1	1	0	1	1
Media	12,94	12,58	12,11	-0,36	-0,84	-0,48	-2,77	-6,1	-3,40
DE	1,514	1,62	1,26	0,78	1,07	0,91	5,25	7,24	6,41
Mínimo	10,50	10,40	9,94	-2,90	-3,70	-2,90	-19,21	-22,29	-18,88
Máximo	17,80	19,20	17,00	2,90	2,40	2,70	17,79	19,83	22,88
Percentil 25	12,00	11,60	11,37	-0,60	-1,22	-0,70	-5,45	-9,70	-5,72
50	12,60	12,20	11,90	-0,40	-0,85	-0,30	-2,94	-6,93	-2,70
75	13,50	13,20	12,60	-0,10	-0,20	0,00	-0,84	-1,82	0,00
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	12,69	12,27	12,04	-0,42	-0,63	-0,16	-3,36	-4,70	-1,11
DE	1,47	1,57	1,46	0,61	0,99	0,74	4,41	7,50	6,01
Mínimo	11,00	10,40	10,50	-3,80	-3,80	-1,90	-26,39	-26,39	-13,19
Máximo	17,50	17,50	16,80	0,30	2,40	2,70	2,42	21,24	24,55
Percentil 25	11,55	11,10	11,00	-0,60	-1,07	-0,47	-4,74	-8,63	-3,60
50	12,20	11,85	11,45	-0,30	-0,60	-0,05	-2,64	-4,37	-0,42
75	13,75	13,07	12,50	-0,20	-0,10	0,20	-1,52	-0,90	1,70
p*	0,258	0,141	0,338	0,852	0,230	0,046	0,896	0,212	0,041

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; DE: desviación estándar

La ADE es una medición cuantitativa de la anisocitosis, los valores normales están entre 15.5 y 14.5%. Sólo la elevación es anormal. Las determinaciones realizadas en las 3 visitas se encontraron dentro de los valores de referencia.

Figura 38. Mediana de la amplitud de distribución eritrocitaria en cada visita por grupo

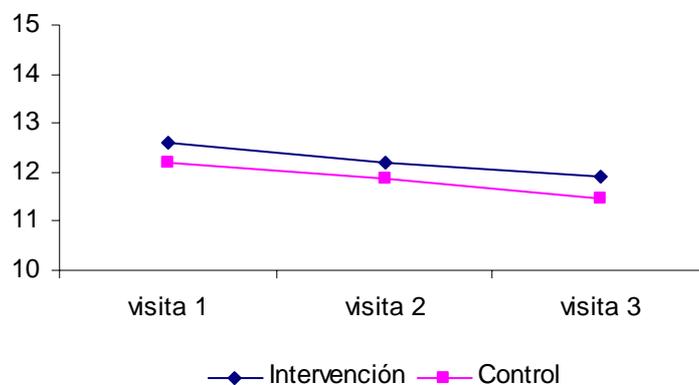


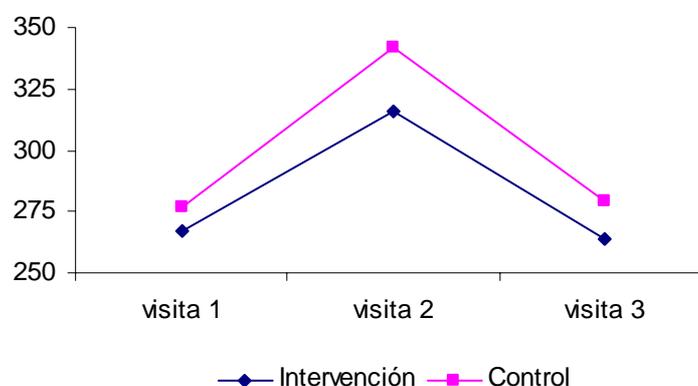
Tabla 39. Número de plaquetas por grupo a lo largo del tiempo ($10^3/\mu\text{L}$)

Grupo	Visita 1	Visita2	Visita3	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	59	57	59	57	57	59	57	57
Perdidos	0	0	2	0	2	2	0	2	2
Media	277,98	329,49	271,87	51,51	-7,64	-56,30	25,94	2,25	12,24
DE	82,57	97,913	58,27	102,72	67,08	78,64	43,49	24,33	216,62
Mínimo	125,00	15,40	151,00	-251,60	-208,00	-329,00	-94,23	-48,37	-48,81
Máximo	516,00	714,00	416,00	412,00	121,00	248,60	142,64	80,13	1614,29
Percentil 25	220,00	285,00	238,00	1,00	-45,50	-85,00	0,34	-14,04	-24,58
50	267,00	316,00	264,00	64,00	2,00	-55,00	20,78	0,64	-17,96
75	341,00	365,00	297,00	101,00	34,00	-17,50	49,69	16,24	-5,22
Control									
N	42	42	40	42	40	40	42	40	40
Perdidos	3	3	5	3	5	5	3	5	5
Media	300,40	351,09	272,10	50,69	-27,35	-79,77	26,25	-2,71	-19,70
DE	104,51	98,812	61,09	104,55	74,75	68,43	43,68	25,97	18,78
Mínimo	143,00	167,00	155,00	-201,00	-181,00	-219,00	-54,62	-42,48	-43,96
Máximo	546,00	654,00	461,00	298,00	105,00	80,00	161,96	57,07	47,90
Percentil 25	207,00	274,25	228,75	-20,75	-78,50	-128,75	-5,63	-21,56	-30,91
50	277,50	342,00	279,50	70,00	-26,50	-86,00	23,43	-11,19	-22,91
75	368,00	408,75	296,75	122,50	46,75	-35,25	55,00	19,02	-13,64
p*	0,232**	0,243	0,629	0,863	0,178**	0,063	0,929	0,164	0,071

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; **t-student; DE: desviación estándar

No existieron diferencias significativas entre grupos en la variación porcentual del número total de plaquetas por μL . Los valores de referencia de esta variable se encuentran entre 120 y $450 \times 10^3/\mu\text{L}$. Entre las visitas 1 y 3 se observó un aumento en la variación porcentual del número de plaquetas en el grupo intervención y una disminución del 11% en el grupo control.

Figura 39. Mediana del número de plaquetas en cada visita por grupo



4.3. CITOCINAS EN LECHE MATERNA

Tabla 40. Niveles de TGF- β 1 en leche materna por grupo a lo largo del tiempo (pg/mL)

Grupo	Calostro n=104	L Inicial n=99	L Madura n=91	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	58	54	58	54	54	58	54	54
Perdidos	0	1	5	1	5	5	1	5	5
Media	3420,18	581,51	390,79	-2553,9	-2934,7	-198,21	-6,25	-33,57	252,96
DE	4458,43	495,82	637,45	3886,3	4020,3	894,89	235,51	224,75	1056,34
Mínimo	62,50	7,31	38,57	-13329,2	-13661,9	-1446,61	-99,92	-99,11	-95,01
Máximo	19934,50	1522,64	3899,92	1217,1	3088,4	3734,07	1388,37	1501,09	6222,28
Percentil 25	493,25	174,89	161,14	-3184,9	-4470,0	-875,25	-86,28	-95,81	-73,11
50	1464,00	315,61	214,72	-850,7	-1228,7	-71,37	-74,96	-84,25	-36,51
75	4459,40	1159,41	341,12	-92,4	-332,0	90,14	-24,68	-56,70	46,40
Control									
N	42	41	37	41	37	36	41	37	36
Perdidos	3	4	8	4	8	9	4	8	9
Media	4356,13	442,80	546,73	-3195,2	-3233,6	67,62	-51,83	-11,44	938,1
DE	7283,48	388,90	726,37	5834,1	6264,4	927,44	72,517	177,72	3903,7
Mínimo	53,70	6,69	61,79	-29634,5	-29916,3	-1163,64	-99,51	-98,89	-93,6
Máximo	32071,50	1264,84	3965,58	771,9	3479,4	3819,91	315,31	715,81	23103,3
Percentil 25	614,79	120,41	185,69	-3430,8	-3119,9	-325,33	-95,35	-94,03	-65,1
50	1653,10	300,35	354,09	-1120,3	-1089,6	-46,65	-78,69	-68,46	-14,4
75	4172,30	720,19	533,10	-191,5	-141,2	296,49	-28,60	-30,54	173,1
p*	0,801	0,230	0,031	0,776	0,457	0,096	0,386	0,167	0,130

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; DE: desviación estándar

La variación porcentual de la concentración de TGF- β 1 entre los valores basales de la variable (visita 1) y la visita final (visita 3) disminuyó en ambos grupos, 84% en el grupo intervención y 68% en el grupo control, no habiendo diferencias con significación estadística entre grupos. Lo mismo sucede con la variación porcentual de la concentración de TGF- β 1 entre las visitas 1 y 2 donde disminuyó 75% en el grupo intervención y 79% en el grupo control. Los indicadores de TGF- β 1 son mayores en el grupo control en leche madura (354 vs 215).

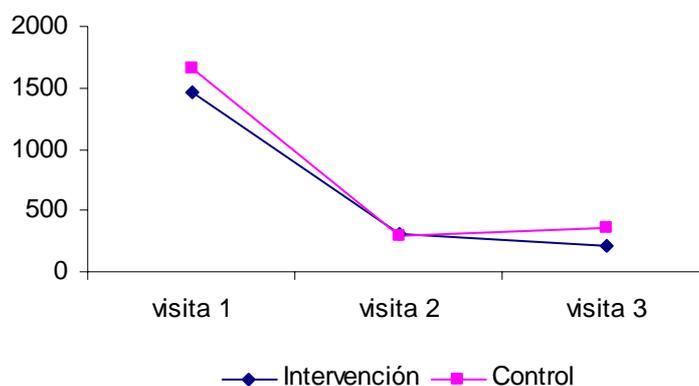
Figura 40. Mediana de la concentración de TGF- β 1 en cada visita por grupo

Tabla 41. Niveles de TGF- β 2 leche materna por grupo a lo largo del tiempo (pg/mL)

Grupo	Calostro n=104	L Inicial n=99	L Madura n=91	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	58	54	58	54	54	58	54	54
Perdidos	0	1	5	1	5	5	1	5	5
Media	34345,9	17031,5	45330,0	-16199,6	10934,3	29460,4	-15,70	108,32	389,27
DE	36581,9	19662,6	142964,1	39212,1	148860	144274	86,30	670,68	1880,93
Mínimo	3940,0	1215,0	1884,0	-175328	-181578	-100626	-98,11	-94,40	-95,24
Máximo	192350,0	110970	659050,0	76697,0	636425	642393	315,09	3389,75	12707,6
Percentil 25	14086,0	7721,2	5585,2	-16785,7	-20063,7	-6267,2	-64,64	-78,95	-54,99
50	21223,0	11960,5	8881,0	-7962,2	-11390,5	-970,2	-42,51	-57,06	-15,45
75	31789,0	17680,5	14078,7	224,0	-3705,75	3653,7	1,84	-27,02	34,18
Control									
N	42	41	37	41	37	36	41	37	36
Perdidos	3	4	8	4	8	9	4	8	9
Media	58534,3	21496,3	53388,1	-37937,7	-7168,7	33014,6	39,74	147,40	653,88
DE	119434,4	25520,9	127467,1	122977,9	180352	133735	306,51	629,16	2385,22
Mínimo	2311,0	3363,0	1157,0	-617214	-536326	-84066,0	-97,97	-98,71	-91,99
Máximo	630000,0	142605	644300,0	87718,0	624961	638051	1854,90	3231,61	10210,4
Percentil 25	11599,7	9773,0	7752,5	-26603,0	-20644,0	-12482,7	-69,99	-72,67	-58,52
50	25660,0	13189,0	11158,0	-13090,0	-7067,0	-1189,0	-35,29	-38,13	-8,98
75	51408,7	21204,0	20765,0	3602,5	3886,5	2693,2	43,96	28,45	24,14
p*	0,705	0,259	0,099	0,793	0,482	0,592	0,738	0,222	0,687

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; DE: desviación estándar

No existieron diferencias significativas entre grupos en la variación porcentual de la concentración de TGF- β 2. Entre las visitas 1 y 3 se observó una disminución del 57% en el grupo intervención y del 38% en el grupo control. La reducción porcentual observada entre las visitas 1 y 2 fue: 43% para el grupo intervención y 35% para el grupo control.

Figura 41. Mediana de la concentración de TGF- β 2 en leche materna en cada visita por grupo

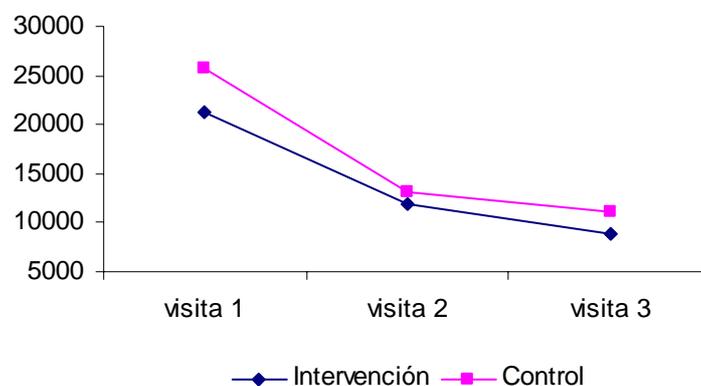


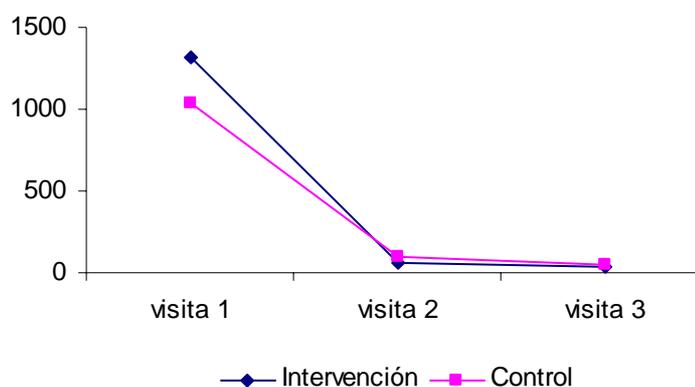
Tabla 42. Niveles de IL-8 en leche materna por grupo a lo largo del tiempo (pg/mL)

Grupo	Calostro n=104	L Inicial n=99	L Madura n=91	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	58	54	58	54	54	58	54	54
Perdidos	0	1	5	1	5	5	1	5	5
Media	2089,45	170,08	297,10	-1892,24	-1859,21	-86,35	-63,70	-27,59	717,91
DE	2134,40	359,70	1196,15	2147,99	2098,40	417,65	127,84	281,92	3928,25
Mínimo	19,50	11,60	6,40	-9545,90	-9541,80	-2571,50	-99,79	-99,86	-98,56
Máximo	9568,20	2604,90	7755,10	181,50	250,20	887,20	848,13	1591,41	27400,3
Percentil 25	394,70	29,32	19,22	-2737,10	-2835,85	-106,07	-97,60	-98,94	-78,50
50	1323,90	66,60	35,80	-1022,70	-1158,50	-26,10	-93,26	-95,87	-37,54
75	3190,80	172,30	98,22	-274,22	-303,87	9,25	-74,32	-75,82	80,90
Control									
N	42	41	37	41	37	36	41	37	36
Perdidos	3	4	8	4	8	9	4	8	9
Media	1589,69	254,47	255,53	-1372,30	-1555,08	-111,97	-25,02	112,07	438,53
DE	1687,03	478,82	506,52	1803,63	1818,59	526,84	179,59	868,27	1855,63
Mínimo	14,00	7,60	12,40	-6261,80	-6417,20	-2522,60	-99,73	-99,52	-95,44
Máximo	6455,00	2565,00	2071,10	1697,50	932,60	1339,10	713,69	5105,59	11095,1
Percentil 25	259,90	24,00	27,90	-2467,60	-2738,05	-168,25	-96,27	-98,57	-81,56
50	1032,00	99,30	54,00	-911,40	-948,00	-48,55	-90,98	-93,02	-14,51
75	2548,72	243,95	189,10	-203,70	-157,65	17,82	-70,71	-63,19	276,00
p*	0,258	0,489	0,116	0,317	0,492	0,702	0,359	0,232	0,505

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; DE: desviación estándar

La mediana de la variación porcentual de la concentración de IL-8 entre los valores basales de la variable (visita 1) y la visita final (visita 3) disminuyeron en ambos grupos, 96% en el grupo intervención y 93% en el grupo control, no habiendo diferencias con significación estadística entre grupos. Lo mismo sucede con la mediana de la variación porcentual de la concentración de IL-8 entre las visitas 1 y 2 donde disminuyeron 93% en el grupo intervención y 91% en el grupo control.

Figura 42. Mediana de la concentración de IL-8 en leche materna en cada visita por grupo



Se observó que la distribución de la variación porcentual de la variable entre las visitas inicial y final fue menor en el grupo intervención (valores mínimos y máximos comprendidos entre -100 y 1591). La distribución en el grupo control mostró concentraciones más altas (valores mínimos y máximos que oscilan entre -100 y 5105).

Estos datos estaban en concordancia con los valores observados en TNF- α . Dado que TNF- α estimula la producción de IL8, valores bajos de TNF- α inducirán una menor producción de IL8, como ocurre en el grupo intervención.

Tabla 43. Niveles de IgA en leche materna por grupo a lo largo del tiempo (mg/dL)

Grupo	Calostro n=104	L Inicial n=99	L Madura n=91	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	58	54	58	54	54	58	54	54
Perdidos	0	1	5	1	5	5	1	5	5
Media	763,22	56,71	79,70	-714,86	-688,36	23,68	-72,76	-59,68	41,96
DE	1100,09	34,27	177,03	1107,019	1150,24	176,36	30,15	130,05	264,97
Mínimo	37,60	24,90	24,90	-6050,20	-6060,80	-146,00	-99,26	-99,19	-77,44
Máximo	6110,00	199,00	961,00	35,50	701,40	898,50	47,65	859,56	1437,60
Percentil 25	118,00	33,97	27,75	-822,85	-756,15	-19,75	-94,06	-95,78	-31,35
50	427,00	48,65	35,40	-356,75	-331,35	-6,35	-86,35	-88,61	-18,17
75	852,00	63,37	46,40	-59,37	-67,47	,05	-63,19	-60,31	014
Control									
N	42	41	37	41	37	36	41	37	36
Perdidos	3	4	8	4	8	9	4	8	9
Media	786,22	59,56	111,98	-738,08	-636,78	56,77	-68,12	-67,75	141,32
DE	1119,92	38,26	261,27	1111,60	935,10	267,65	32,97	50,32	609,47
Mínimo	24,90	24,90	24,90	-4694,00	-3428,00	-60,50	-99,07	-98,40	-69,71
Máximo	4960,00	266,00	1490,00	11,30	745,00	1445,60	22,24	133,94	3255,86
Percentil 25	117,50	41,35	29,30	-1140,70	-907,65	-26,65	-94,51	-94,69	-39,45
50	271,00	52,50	39,10	-233,60	-248,70	-9,40	-82,68	-85,35	-18,91
75	1122,50	72,05	55,60	-49,30	-80,65	3,30	-44,10	-65,76	12,65
p*	0,812	0,382	0,229	0,722	1,000	0,742	0,486	0,668	0,811

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; DE: desviación estándar

No existieron diferencias significativas entre grupos en la variación porcentual de la de la concentración de IgA en leche materna. Entre las visitas 1 y 3 se observó una disminución del 89% (mediana) en el grupo intervención y una disminución del 85% (mediana) en el grupo control. La mediana de reducción porcentual que se observó entre las visitas 1 y 2 fue: 86% en el grupo intervención y 83% en el grupo control.

Figura 43. Mediana de la concentración de IgA en leche materna en cada visita por grupo

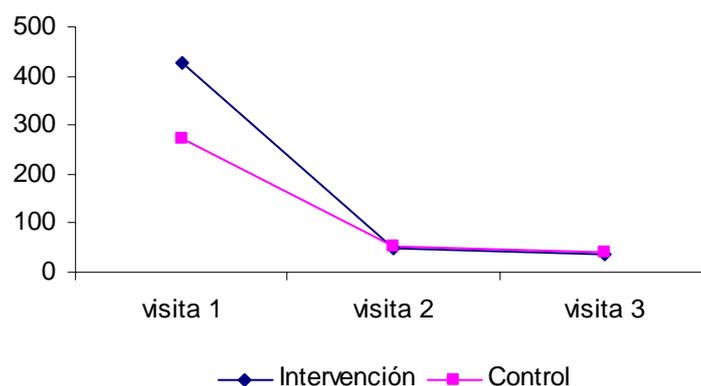


Tabla 44. Niveles de IL-10 en leche materna por grupo a lo largo del tiempo (pg/mL)

Grupo	Calostro n=104	L Inicial n=99	L Madura n=91	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	58	54	58	54	54	58	54	54
Perdidos	0	1	5	1	5	5	1	5	5
Media	7,86	1,99	2,06	-4,66	-4,75	,04	-8,23	-5,87	21,03
DE	19,34	1,81	2,15	17,35	17,99	2,91	121,85	138,91	132,35
Mínimo	1,65	1,65	1,65	-125,95	-125,95	-12,85	-98,71	-98,71	-88,62
Máximo	127,60	14,50	16,70	12,85	15,05	15,05	778,79	912,12	912,12
Percentil 25	1,65	1,65	1,65	-4,22	-3,85	0,00	-71,90	-69,01	0,00
50	1,65	1,65	1,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
75	6,10	1,65	1,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Control									
N	42	40	37	40	37	36	40	37	36
Perdidos	3	5	8	5	8	9	5	8	9
Media	5,91	1,98	1,88	-4,14	-2,89	-,03	8,10	1,11	11,03
DE.	14,71	1,39	1,02	15,22	12,23	1,76	92,44	60,00	65,83
Mínimo	1,65	1,65	1,65	-63,05	-58,85	-8,15	-97,45	-97,27	-83,16
Máximo	64,70	9,80	6,80	8,15	5,15	5,15	493,94	312,12	312,12
Percentil 25	1,65	1,65	1,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
50	1,65	1,65	1,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
75	1,65	1,65	1,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
p*	0,011	0,657	0,976	0,030	0,014	0,988	0,030	0,014	0,988

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney, DE: desviación estándar

La citocina IL10 es producida por linfocitos del tipo Th2, es la citocina inmunosupresora por excelencia, inhibiendo la síntesis de muchas otras citocinas, entre las que podemos citar IFN- γ e IL-12. Entre las visitas 1 y 3 se observó una diferencia significativa en la variación porcentual media de la concentración de IL-10: en el grupo intervención disminuye un 6% y el en grupo control aumenta un 1%.

Se detectaron concentraciones de IL-10 en 30% de las muestras de calostro, 11,5% de las muestras de leche inicial y 17% de las muestras de leche madura. Los valores inferiores a límite de detección fueron reemplazados por la mitad de dicho límite (1,65) como se ha observado en la literatura¹⁴⁹.

Tabla 45. Niveles de IL-12 en leche materna por grupo a lo largo del tiempo (pg/mL)

Grupo	Calostro n=104	L Inicial n=99	L Madura n=91	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	58	54	58	54	54	58	54	54
Perdidos	0	1	5	1	5	5	1	5	5
Media	49,21	20,71	2,55	-29,33	-50,17	-2,61	168,80	23,77	38,39
DE	152,029	120,62	4,58	193,19	156,90	10,31	959,20	313,34	307,33
Mínimo	,95	,95	,95	-970,10	-997,70	-57,70	-99,43	-99,73	-95,53
Máximo	1016,20	919,20	21,60	894,40	20,65	20,65	6257,89	2173,68	2173,68
Percentil 25	0,95	0,95	0,95	-9,91	-10,02	-1,51	-86,91	-91,09	-50,62
50	2,40	0,95	0,95	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
75	14,50	3,25	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Control									
N	42	41	37	41	37	36	41	37	36
Perdidos	3	4	8	4	8	9	4	8	9
Media	30,83	15,36	5,73	-15,83	-28,77	-11,33	760,50	51,91	169,43
DE	103,62	45,30	19,18	116,66	112,74	46,08	4000,31	231,37	610,75
Mínimo	,95	,95	,95	-523,95	-523,95	-240,75	-99,82	-99,82	-99,61
Máximo	524,90	241,70	114,20	240,75	103,10	30,45	25342,1	928,83	3205,26
Percentil 25	0,95	0,95	0,95	-2,57	-3,80	0,00	-57,75	-73,09	0,00
50	0,95	0,95	0,95	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
75	5,72	0,95	0,95	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
p*	0,349	0,349	0,809	0,209	0,383	0,479	0,249	0,393	0,263

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; DE: desviación estándar

No existieron diferencias significativas entre grupos en la variación porcentual de la concentración de IL-12. Entre las visitas inicial y final se observó una distribución de la variación porcentual de la variable mayor en el grupo intervención. Los valores mínimos y máximos se encontraron entre 100 y 2174 en el grupo intervención y entre -100 y 929 en el grupo control.

La importancia de esta citocina deriva de su capacidad de dirigir la diferenciación de los linfocitos Th hacia células efectoras tipo Th1 de la hipersensibilidad retardada. Se detectaron concentraciones de IL-12 en 50% de las muestras de calostro, 33% de las muestras de leche inicial y 34% de las muestras de leche madura. Los valores inferiores a límite de detección fueron reemplazados por la mitad de dicho límite (0,95) como se ha observado en la literatura¹⁴⁹.

Tabla 46. Niveles de TNF- α en leche materna por grupo a lo largo del tiempo (pg/mL)

Grupo	Calostro n=104	L Inicial n=99	L Madura n=91	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	58	54	58	54	54	58	54	54
Perdidos	0	1	5	1	5	5	1	5	5
Media	10,17	4,66	2,06	-5,65	-8,14	-2,35	31,03	-31,68	-,65
DE	13,44	11,96	,98	18,32	13,83	12,08	361,49	71,59	59,08
Mínimo	1,85	1,85	1,85	-51,75	-51,75	-83,35	-96,55	-96,55	-97,83
Máximo	53,60	85,20	8,00	81,40	6,15	6,15	2142,11	332,43	332,43
Percentil 25	1,85	1,85	1,85	-9,28	-9,72	0,00	-79,07	-83,90	0,00
50	3,80	1,85	1,85	0,00	-1,90	0,00	0,00	-50,65	0,00
75	13,30	1,85	1,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Control									
N	42	41	37	41	37	36	41	37	36
Perdidos	3	4	8	4	8	9	4	8	9
Media	6,45	2,43	2,25	-4,13	-4,32	-,16	5,40	-1,59	5,11
DE	19,71	1,68	1,52	20,13	21,12	1,64	84,49	60,04	52,17
Mínimo	1,85	1,85	1,85	-127,05	-127,05	-5,85	-98,56	-98,56	-75,97
Máximo	128,90	9,00	9,70	5,85	4,55	4,55	316,22	245,95	245,95
Percentil 25	1,85	1,85	1,85	-0,92	0,00	0,00	-25,00	0,00	0,00
50	1,85	1,85	1,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
75	4,10	1,85	1,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
p*	0,006	0,614	0,612	0,022	0,002	0,231	0,024	0,002	0,231

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; DE: desviación estándar

El TNF- α es la principal citocina responsable del shock séptico asociado a bacteriemias. Junto con la IL-1 está implicada en los procesos inflamatorios derivados de los procesos infecciosos, elevando la temperatura corporal y produciendo caquexia y sueño al actuar sobre el SNC.

Entre las visitas 1 y 3 se observó una disminución significativa de la variación porcentual media de la concentración de TNF- α : 32% en el grupo intervención y 2% en el grupo control.

Se detectaron concentraciones de TNF- α en 42% de las muestras de calostro y 18% de las muestras de leche inicial y leche madura. Los valores inferiores a límite de detección fueron reemplazados por la mitad de dicho límite (1,85) como se ha observado en la literatura¹⁴⁹.

Tabla 47. Niveles de IL-6 en leche materna por grupo a lo largo del tiempo (pg/mL)

Grupo	Calostro n=104	L Inicial n=99	L Madura n=91	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	58	54	58	54	54	58	54	54
Perdidos	0	1	5	1	5	5	1	5	5
Media	67,55	30,27	5,58	-36,36	-58,50	-19,11	108,78	80,00	181,98
DE	109,49	95,03	15,05	144,90	109,58	93,42	935,77	1052,81	1102,24
Mínimo	1,25	1,25	1,25	-528,45	-528,45	-590,25	-99,76	-99,76	-99,79
Máximo	529,70	591,50	97,00	583,10	95,75	95,75	6941,67	7660,00	7660,00
Percentil 25	5,90	1,25	1,25	-64,28	-74,00	-4,60	-97,04	-98,33	-69,55
50	33,90	1,25	1,25	-19,50	-26,72	0,00	-78,75	-93,32	0,00
75	81,10	11,32	1,25	0,00	-1,31	0,00	0,00	-43,75	0,00
Control									
N	42	41	37	41	37	36	41	37	36
Perdidos	0	4	8	4	8	9	4	8	9
Media	61,00	15,51	8,86	-46,69	-53,27	-6,20	173,36	179,84	304,73
DE	112,14	26,62	19,18	117,65	121,70	32,27	812,43	1246,83	917,81
Mínimo	1,25	1,25	1,25	-612,15	-605,10	-131,85	-99,80	-99,52	-99,06
Máximo	613,40	133,10	95,20	123,40	93,95	54,15	3820,00	7516,00	4332,00
Percentil 25	3,72	1,25	1,25	-39,97	-53,25	-12,12	-94,51	-97,70	-90,60
50	18,70	1,25	1,25	-10,95	-8,45	0,00	-73,95	-81,88	0,00
75	54,10	22,90	2,97	0,00	0,00	2,58	0,00	0,00	42,72
p*	0,347	0,666	0,341	0,481	0,255	0,726	0,413	0,245	0,752

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney, DE: desviación estándar

No existieron diferencias significativas entre grupos en la variación porcentual de la concentración de IL-6. Se detectaron concentraciones de IL-6 en 83% de las muestras de calostro, 43% de las muestras de leche inicial y 30% de las muestras de leche madura. Los valores inferiores a límite de detección fueron reemplazados por la mitad de dicho límite (1,25) como se ha observado en la literatura¹⁴⁹.

Tabla 48. Niveles de IL1- β en leche materna por grupo a lo largo del tiempo (pg/ml)

Grupo	Calostro n=104	L Inicial n=99	L Madura n=91	VA V2-V1	VA V3-V1	VA V3-V2	VP V2-V1	VP V3-V1	VP V3-V2
Intervención									
N	59	58	54	58	54	54	58	54	54
Perdidos	0	1	5	1	5	5	1	5	5
Media	109,29	68,30	11,08	-42,81	-101,86	-24,50	386,21	16,27	35,53
DE	255,55	269,53	24,19	361,82	261,89	78,41	1798,98	306,40	300,21
Mínimo	3,60	3,60	3,60	-1191,10	-1326,90	-394,60	-99,38	-99,66	-99,10
Máximo	1395,20	1995,00	148,60	1897,00	115,00	75,30	10961,1	2091,67	2091,67
Percentil 25	3,60	3,60	3,60	-49,85	-40,92	-11,42	-86,82	-90,99	-42,76
50	8,70	3,60	3,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
75	68,30	21,65	3,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Control									
N	42	41	37	41	37	36	41	37	36
Perdidos	0	4	8	4	8	9	4	8	9
Media	100,10	65,56	31,86	-35,53	-72,98	-39,98	276,30	217,91	285,57
DE	267,34	165,60	98,18	321,08	306,97	137,77	1298,50	752,65	956,56
Mínimo	3,60	3,60	3,60	-1139,80	-1139,80	-494,80	-99,69	-99,69	-99,14
Máximo	1143,40	717,00	573,40	665,10	521,50	141,00	8183,33	3413,89	3916,67
Percentil 25	3,60	3,60	3,60	-9,30	-13,50	0,00	-67,41	-78,19	0,00
50	3,60	3,60	3,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
75	53,85	9,55	3,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
p*	0,472	0,557	0,644	0,169	0,116	0,233	0,254	0,157	0,433

VA: variación absoluta; VP: variación porcentual; *Mann-Whitney; DE: desviación estándar

No se observaron diferencias significativas entre grupos en la variación porcentual de la concentración de IL1- β . Se detectaron concentraciones de IL1- β en 47% de las muestras de calostro, 33% de las muestras de leche inicial y 25% de las muestras de leche madura. Los valores inferiores a límite de detección fueron reemplazados por la mitad de dicho límite (3,6) como se ha observado en la literatura¹⁴⁹.

4.4. SEGUIMIENTO DE LOS NIÑOS

4.4.1. Datos basales de los niños

Todos los niños fueron monitorizados durante el parto. Todos los bebés presentaron meconio y orina dentro de las primeras 24 hs, siendo el período neonatal y el screening neonatal normal en todos los niños. No se observó consanguinidad entre los padres. Los recién nacidos no recibieron ninguna vacuna.

La tabla 49 resume las principales características de los factores pronósticos por brazo de tratamiento tras la aleatorización.

Tabla 49. Principales características basales de los niños por grupo

	Intervención n=58	Control n=45	p*
	Media (DE)	Media (DE)	
Peso	3,32 (0,37)	3,25 (0,41)	0,333
Talla	50,2 (1,9)	50,2 (2,2)	0,946
Perímetro cefálico	34,6 (1,5)	33,9 (1,4)	0,027
Semanas de gestación	40,1 (1,0)	39,6 (1,4)	0,077
Presentación fetal del RN (%)			
eutócico	78,0	82,2	0,592**
distócico	22,0	17,8	
Tipo de parto (%)			
dirigido	62,7	57,8	0,427**
inducido	18,6	28,9	
instrumental	18,6	13,3	
Malestar fetal (%)	1,7	2,3	0,833**
Uso de anestésico (%)	67,8	66,7	0,903**
Apgar al minuto (%)			
7	8,6	2,2	0,374**
8	6,9	8,9	
9	84,5	88,9	
Apgar a los 5 minutos (%)			
8	5,2	2,2	0,693**
9	31,0	35,6	
10	63,8	62,2	

DE: desviación estándar; * t-student;**Ji-cuadrado

4.4.2. Seguimiento a los 2 meses

Ninguno de los niños asistió a la guardería durante los 2 primeros meses de vida, ni fueron sometidos a intervenciones quirúrgicas.

Tabla 50. Antropometría, uso de medicamentos y alimentación a los 2 meses por grupo

	Intervención n=54	Control n=38	p*
	Media (DE)	Media (DE)	
Peso	5,6 (0,7)	5,4 (0,8)	0,119
Talla	59,4 (2,5)	58,4 (2,5)	0,053
Perímetro cefálico	39,8 (1,1)	39,5 (1,3)	0,352
Tomó medicamentos (%)	88,9	89,5	0,929**
Usó pomadas (%)	51,9	55,3	0,747**
Continúa con la lactancia (%)	92,6	81,6	0,109**

DE: desviación estándar; * t-student;**Ji-cuadrado

Tabla 51. Exploración física de los niños a los 2 meses por grupo

	Intervención n=54	Control n=38
	Normal	Normal
Aspecto general (%)	100	100
Estado nutricional (%)	100	100
Piel y mucosas (%)	96.3	97.4
Cabeza (%)	100	97.4
Cuello (%)	98.1	100
Ojos (%)	100	97.4
ORL (%)	98.1	94.7
Tórax (%)	98.1	97.4
Abdomen (%)	96.3	100
Genitales (%)	98.1	100
Chorro miccional (%)	100	100
Locomotor (%)	100	97.4
Columna (%)	100	100
Cadera (%)	96.3	100
Extremidades (%)	100	97.4
Pies (%)	100	100
Valoración neurológica (%)	100	100

No se observaron anomalías tras la exploración física de los niños del estudio. Agudeza visual y auditiva no se valoró por la edad.

En la tabla 52 se observa que un 13% de los niños del grupo intervención presentaron una o más infecciones respiratorias, mientras que el grupo control un 10,5% de niños presentaron una o más infecciones respiratorias.

Tabla 52. Afecciones durante el período de 0 a 2 meses por grupo

	Intervención n=54	Control n=38	p
Episodios respiratorios (%)	13.0	10.5	0.495*
Episodios gastrointestinales (%)	51.9	63.2	0.281**
Alergia (%)	-	-	-
Infecciones urinarias (%)	3.7	2.6	0.631*
Dermatitis (%)	25.9	36.8	0.263**

* Fisher ** Chi-cuadrado

Respecto a las infecciones gastrointestinales un 48,1% de los niños del grupo intervención no presentaron infecciones en el tracto gastrointestinal, frente a un 36,8% en el grupo control. En cuanto a las dermatitis, 74,1% de los niños cuyas madres fueron aleatorizadas al grupo intervención no presentaron dermatitis y en el grupo control encontramos un 63,2% de niños que no presentaron dermatitis. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en ningún caso.

4.4.3. Seguimiento a los 6 meses

Tabla 53. Antropometría, uso de medicamentos y alimentación a los 6 meses por grupo

	Intervención n=51 Media (DE)	Control n=37 Media (DE)	p*
Peso	8,0 (0,8)	7,9 (1,1)	0,272
Talla	69,2 (2,2)	68,0 (2,5)	0,012
Perímetro cefálico	44,1 (1,4)	43,8 (1,4)	0,488
Tomó medicamentos (%)	74,5	91,9	0,037**
Usó pomadas (%)	70,6	75,7	0,597**
Continúa con la lactancia (%)	52,9	40,5	0,250**
Asiste a la guardería (%)	3,9	10,8	0,206**

DE: desviación estándar; * t-student; ** Ji-cuadrado

En la tabla 53 se refleja que el porcentaje de niños que necesitaron medicamentos fue menor en el grupo intervención respecto al grupo control (75,4% y 91,9% respectivamente). Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p=0,037$)

Tras la exploración física a los 6 meses de los niños del estudio no se observaron anomalías. Agudeza visual y auditiva no se valoró por la edad.

Tabla 54. Exploración física de los niños a los 6 meses por grupo

	Intervención n=51	Control n=37
	Normal	Normal
Aspecto general (%)	100	100
Estado nutritivo (%)	100	100
Piel y mucosas (%)	98.0	94.6
Cabeza (%)	100	100
Cuello (%)	100	100
Ojos (%)	100	100
ORL (%)	98.0	97.3
Tórax (%)	100	100
Abdomen (%)	100	100
Genitales (%)	100	97.3
Chorro miccional (%)	100	100
Locomotor (%)	100	100
Columna (%)	100	100
Cadera (%)	100	100
Extremidades (%)	100	100
Pies (%)	100	100
Valoración neurológica (%)	100	100

En la tabla 55 se observa que un 33,3% de los niños del grupo intervención presentaron una o más infecciones respiratorias, mientras que el grupo control el porcentaje de niños que presentaron una o más infecciones respiratorias fue del 16,2 %.

Respecto a las infecciones gastrointestinales un 70,6% de los niños del grupo intervención no presentan infecciones en el tracto gastrointestinal, frente a un 45,9% en el grupo control, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p=0,020$).

Tabla 55. Afecciones durante el período de 2 a 6 meses por grupo

	Intervención n=51	Control n=37	p
Episodios respiratorios (%)	33.3	16.2	0.071**
Episodios gastrointestinales (%)	29.4	54.1	0.020**
Alergia (%)	3.9	5.4	0.562*
Infecciones urinarias (%)	-	5.4	0.174*
Dermatitis (%)	21.6	37.8	0.095**

* Fisher ** Chi-cuadrado

En cuanto a las dermatitis, 78,4% de los niños cuyas madres fueron aleatorizadas al grupo intervención no presenten dermatitis, y en el grupo control encontramos un 62,2% de niños que no presentan dermatitis.

4.5. EVALUACIÓN NUTRICIONAL DE LA GESTANTE

4.5.1. Frecuencia de consumo de alimentos durante el embarazo

Tabla 56. Frecuencia de consumo de cereales y legumbres durante el embarazo

CEREALES, LEGUMBRES	No consume (%)	Diario (%)	Semanal (%)	Mensual (%)	Ocasional durante el embarazo (%)
Pan blanco	12.6	52.4	26.2	7.8	1.0
Pan integral	36.9	36.9	20.4	2.9	2.9
Pasta: macarrones, espaguetis	1.9	0.0	85.4	11.7	1.0
Arroz hervido	2.9	4.9	77.7	12.6	1.9
Cereales dulces (desayuno)	38.8	32.0	23.3	5.8	0.0
Gofio de trigo	74.8	4.9	14.6	4.9	1.0
Gofio de millo	55.3	12.6	23.3	6.8	0.0
Papas sancochadas, guisadas	2.9	2.9	82.5	11.7	0.0
Papas chips	17.5	3.9	51.5	27.2	0.0
Legumbres	5.8	6.8	80.6	4.9	1.9

Respecto a la frecuencia de consumo de cereales y legumbres durante el embarazo (tabla 56) podemos advertir que los resultados más destacables fueron que el 52,4% de las mujeres de nuestro estudio come pan blanco a diario, mientras que el 37% consumen pan integral. Un poco más de la mitad de las mujeres estudiadas no consumen ningún tipo de gofio.

Tabla 57. Frecuencia de consumo de carnes, huevos y pescado durante el embarazo

CARNES, HUEVOS, PESCADO	No consume (%)	Diario (%)	Semanal (%)	Mensual (%)	Ocasional durante el embarazo (%)
Carne de vaca-ternera (bistec,hamburguesa)	11.7	1.0	64.1	23.3	0.0
Carne de cochino (excepto embutidos)	30.1	0.0	30.1	35.9	3.9
Jamón (cocido o serrano)	8.7	30.1	49.5	10.7	1.0
Mortadela, Chorizo, Salchichón, otros embutidos	49.5	6.8	34.0	7.8	1.9
Hígado	71.8	0.0	11.7	10.7	5.8
Otras vísceras (riñones, sesos)	94.2	0.0	4.9	1.0	0.0
Carne de aves (pollo..)	4.9	1.9	75.7	14.6	2.9
Carne de cabra, cabrito, cordero	78.6	0.0	4.9	7.8	8.7
Huevo	1.9	4.9	91.3	1.9	0.0
Pescado blanco (sama,viejas,cherne)	6.8	0.0	67.0	24.3	1.9
Pescado azul (longorones,guelde,sardina,atún,..)	14.6	1.0	59.2	24.3	1.0
Pulpo, calamar, choco	20.4	0.0	13.6	58.3	7.8
Marisco (gambas, lapas, mejillones...)	36.9	1.9	9.7	40.8	10.7

En cuanto a la frecuencia de consumo de carnes, huevos y pescado durante el embarazo (tabla 57) destacamos que aproximadamente el 67% de las embarazadas de este estudio ingirieron pescado blanco de forma semanal y el 59,2% consumieron pescado azul semanalmente.

Al observar la frecuencia de consumo de verduras durante el embarazo (tabla 58) se detectó que aproximadamente un 32% de las mujeres encuestadas consumen ensaladas a diario durante el embarazo y casi el 80% ingiere semanalmente potaje de verduras.

Tabla 58. Frecuencia de consumo de verduras durante el embarazo

VERDURAS	No consume (%)	Diario (%)	Semanal (%)	Mensual (%)	Ocasional durante el embarazo (%)
Potaje de verduras ó caldo de papas	5.8	9.7	78.6	4.9	1.0
Lechuga o ensaladas	6.8	32.0	57.3	3.9	0.0
Verduras sancochadas (judías verdes, acelgas..)	20.4	9.7	59.2	10.7	0.0
Tomate crudo	11.7	29.1	57.3	1.9	0.0
Tomate guisado	55.3	2.9	27.2	13.6	1.0
Cebollas o pimientos (crudos)	43.7	17.5	33.0	4.9	1.0
Cebollas o pimientos (guisados)	35.0	11.7	43.7	8.7	1.0
Otras hortalizas (guisadas o crudas)	28.2	13.6	52.4	5.8	0.0

La tabla 59 muestra la frecuencia de consumo de frutas durante el embarazo. En ella observamos que el 66% de las embarazadas encuestadas consumieron a diario naranjas, mandarinas o kivis. Se observó que el 30% de las embarazadas no consumieron ningún zumo natural de fruta y sólo el 47% lo consumieron a diario.

Tabla 59. Frecuencia de consumo de frutas durante el embarazo

FRUTAS	No consume (%)	Diario (%)	Semanal (%)	Mensual (%)	Ocasional durante el embarazo (%)
Manzana	6.8	36.9	41.7	13.6	1.0
Aguacate	25.2	5.8	45.6	22.3	1.0
Naranja, mandarinas, kivis	2.9	66.0	28.2	2.9	0.0
Plátanos	15.5	30.1	42.7	9.7	1.9
Papaya, mangas	35.9	10.7	31.1	18.4	3.9
Zumos de fruta naturales	30.1	46.6	15.5	7.8	0.0
Mermeladas ,frutas almíbar o conserva	42.7	16.5	20.4	19.4	1.0

En relación a la ingesta de lácteos (tabla 60) se observó que un 31% de las embarazadas consumieron a diario leche entera, 23% consumió leche semidesnatada y un 25% consumió leche desnatada. El 26% de las gestantes ingirió diariamente leche fermentada durante el embarazo. Un 22% de las mujeres encuestadas consumieron diariamente queso tierno durante la gestación.

Tabla 60. Frecuencia de consumo de lácteos durante el embarazo

LÁCTEOS	No consume (%)	Diario (%)	Semanal (%)	Mensual (%)	Ocasional durante el embarazo (%)
Leche entera	65.0	31.1	2.0	1.0	0.0
Leche semidesnatada	73.8	23.3	1.9	1.0	0.0
Leche desnatada	72.8	25.2	1.0	1.0	0.0
Leche con grasa vegetal (tipo Millac)	86.4	8.7	1.9	1.9	1.0
Leche fermentada (Actimel)	34.0	26.2	21.4	15.5	2.9
Flan, natillas	31.1	11.7	41.7	15.5	0.0
Yogurt natural	68.0	18.4	8.7	3.9	1.0
Yogures de frutas	50.5	31.1	14.6	2.9	1.0
Yogures desnatados	63.1	30.1	6.8	0.0	0.0
Yogures con grasa vegetal tipo Millac	95.1	3.9	0.0	1.0	0.0
Nata, crema de leche	62.1	1.0	16.5	17.5	2.9
Queso tierno o fresco	19.4	22.3	44.7	12.6	1.0
Queso semiseco (majorero, palmero,...)	31.1	17.5	36.9	13.6	1.0
Queso seco (majorero, manchego)	58.3	12.6	18.4	9.7	1.0

Respecto a la frecuencia de consumo de grasas y aceites (tabla 61) se observó que diariamente utilizaron principalmente aceite de oliva (64,1%) y aceite de oliva virgen (39,8%).

Tabla 61. Frecuencia de consumo de grasas y aceites durante el embarazo

GRASAS - ACEITES	No consume (%)	Diario (%)	Semanal (%)	Mensual (%)	Ocasional durante el embarazo (%)
Mantequilla	49.5	22.3	21.4	6.8	0.0
Margarina	59.2	19.4	15.5	5.8	0.0
Aceite de oliva	31.3	64.1	4.9	0.0	0.0
Aceite de oliva virgen	50.5	39.8	8.7	1.0	0.0
Aceite de girasol o soja	87.4	8.7	2.9	1.0	0.0
Aceite de maíz	95.1	1.9	1.0	1.9	0.0
Mayonesa	27.2	3.9	37.9	29.1	1.9
Tocino, manteca de cerdo	86.4	0.0	6.8	6.8	0.0
Ketchup, mostaza	35.0	8.7	30.1	26.2	0.0

Tabla 62. Frecuencia de consumo de dulces durante el embarazo

DULCES	No consume (%)	Diario (%)	Semanal (%)	Mensual (%)	Ocasional durante el embarazo (%)
Azúcar	30.1	63.1	5.8	1.0	0.0
Miel	56.3	8.7	15.5	14.6	4.9
Bollería (matahambre, "croissants", donuts)	25.2	7.8	43.7	21.4	1.9
Dulces y pasteles	33.0	1.9	36.9	24.3	3.9
Galletas	25.2	16.5	48.5	9.7	0.0
Caramelos y golosinas	43.7	16.5	26.2	13.6	0.0
Chocolate	30.1	13.6	35.9	19.4	1.0
Helado	15.5	14.6	40.8	27.2	1.9

La tabla 62 muestra la frecuencia de consumo de dulces durante el embarazo. En ella se observó una frecuencia de consumo diario de galletas (17%), caramelos y golosinas (17%), chocolate (14%) y helado (15%)

Tabla 63. Frecuencia de consumo de bebidas durante el embarazo

BEBIDAS	No consume (%)	Diario (%)	Semanal (%)	Mensual (%)	Ocasional durante el embarazo (%)
Bebidas refrescantes con gas	35.0	22.3	33.0	6.8	2.9
Bebidas refrescantes sin gas	19.4	62.1	16.5	1.9	0.0
Café	41.7	44.7	11.7	1.9	0.0
Té	72.8	7.8	13.6	5.8	0.0
Cerveza	79.6	1.9	5.8	8.7	3.9
Vino de mesa, champagne - cava	81.6	1.9	3.9	6.8	5.8
Chupito de melocotón, manzana	98.1	0.0	0.0	1.0	1.0
Licores, brandy (ginebra, ron), whisky, combinado	99.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Vodka, aguardiente	99.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Agua mineral sin gas	14.6	83.5	1.9	0.0	0.0
Agua mineral con gas	78.6	18.4	1.9	1.0	0.0

En relación al consumo de bebidas (tabla 63) se observó que las embarazadas prefirieron consumir a diario bebidas refrescantes sin gas (62%) en lugar de aquellas bebidas gasificadas (22%). Lo mismo sucede con el consumo de agua, 84% de las embarazadas consumieron

diariamente agua sin gas y un 18% consumieron a diario agua gasificada. La frecuencia diaria de consumo de café durante el embarazo fue 45%.

Tabla 64. Frecuencia de consumo de salados durante el embarazo

SALADOS	No consume (%)	Diario (%)	Semanal (%)	Mensual (%)	Ocasional durante el embarazo (%)
Sal	5.8	86.4	7.8	0.0	0.0
Frutos secos (almendras, pistachos,...)	24.3	12.6	32.0	27.2	3.9
Aceitunas	25.2	8.7	44.7	18.4	2.9

En la tabla 64 se muestra la frecuencia de consumo de salados durante el embarazo, donde se observó que un 13% de las embarazadas encuestadas consumen frutos secos a diario.

4.5.2. Modificación del consumo de alimentos durante el embarazo

Tabla 65. Modificación del consumo de cereales y legumbres durante el embarazo

CEREALES, LEGUMBRES	Disminuye (%)	Aumenta (%)	No se modifica (%)
Pan blanco	2.9	4.9	92.2
Pan integral	1.9	5.8	92.2
Pasta: macarrones, espaguetis	2.9	1.0	96.2
Arroz hervido	2.9	1.0	96.1
Cereales dulces (desayuno)	2.9	8.7	87.4
Gofio de trigo	1.9	3.9	94.2
Gofio de millo	0.0	5.8	94.2
Papas sancochadas, guisadas	3.9	2.9	93.2
Papas chips (100g)	8.7	1.0	90.3
Legumbres	1.9	11.7	86.4

La tabla 65 muestra la modificación del consumo de cereales y legumbres durante el embarazo. En ella se observa que un 11,7% de las participantes del estudio aumentaron el consumo de legumbres durante el embarazo.

Tabla 66. Modificación del consumo de carnes, huevos y pescado durante el embarazo

CARNES, HUEVOS, PESCADO	Disminuye (%)	Aumenta (%)	No se modifica (%)
Carne de vaca-ternera (bistec,hamburguesa)	4.9	4.9	90.3
Carne de cochino (excepto embutidos)	5.8	1.9	92.2
Jamón (cocido o serrano)	4.9	9.7	85.4
Mortadela, Chorizo, Salchichón, otros embutidos	6.8	3.9	89.3
Hígado	4.9	1.9	93.2
Otras vísceras (riñones, sesos)	1.0	0.0	99.0
Carne de aves (pollo..)	3.9	1.9	94.2
Carne de cabra, cabrito, cordero	1.9	0.0	98.1
Huevo	3.9	2.9	93.2
Pescado blanco (sama,viejas,cherne)	2.9	2.9	94.2
Pescado azul (longorones,guelde,sardina,atún,..)	4.9	4.9	89.3
Pulpo, calamar, choco	5.8	1.9	92.2
Marisco (gambas, lapas, mejillones...)	8.7	6.8	84.5

En relación del consumo de carnes, huevos y pescado se observó que las mujeres encuestadas en general no modificaron el consumo de estos alimentos durante el embarazo (tabla 66).

Tabla 67. Modificación del consumo de frutas durante el embarazo

FRUTAS	Disminuye (%)	Aumenta (%)	No se modifica (%)
Manzana	5.8	19.4	74.8
Aguacate	5.8	5.8	88.3
Naranja, mandarinas, kiwis	2.9	29.1	68.0
Plátanos	6.8	17.5	75.7
Papaya, mangas	0.0	13.6	86.4
Zumos de fruta naturales	1.9	28.2	69.9
Mermeladas ,frutas almibar o conserva	1.0	3.9	95.1

La tabla 67 muestra la modificación del consumo de frutas durante el embarazo. En ella se observó que las mujeres encuestadas aumentaron el consumo de frutas sobre todo el de manzana (casi un 20%) y las naranjas (aproximadamente un 30%) al igual que la ingesta de zumos naturales de frutas (28,6%).

Tabla 68. Modificación del consumo de verduras durante el embarazo

VERDURAS	Disminuye (%)	Aumenta (%)	No se modifica (%)
Potaje de verduras ó caldo de papas	0.0	13.6	86.4
Lechuga o ensaladas	1.0	9.7	89.3
Verduras sancochadas (judías verdes, acelgas..)	1.9	12.6	85.4
Tomate crudo	0.0	3.9	96.1
Tomate guisado	0.0	1.0	99.0
Cebollas o pimientos (crudos)	2.9	1.9	95.1
Cebollas o pimientos (guisados)	1.9	2.9	95.1
Otras hortalizas (guisadas o crudas)	0.0	13.6	86.4

Como en el caso de las frutas, se observó que durante el embarazo las mujeres de este estudio aumentaron consumo de potaje de verdura (14%) y de otras hortalizas guisadas o crudas (14%). Estos datos se observan en la tabla 68.

Tabla 69. Modificación del consumo de lácteos durante el embarazo

LÁCTEOS	Disminuye (%)	Aumenta (%)	No se modifica (%)
Leche entera	1.9	8.7	89.3
Leche semidesnatada	4.9	8.7	86.4
Leche desnatada	2.9	8.7	88.3
Leche con grasa vegetal (tipo Millac)	1.0	0.0	99.0
Leche fermentada (Actimel)	1.9	11.7	86.4
Flan, natillas	2.9	1.9	95.1
Yogurt natural	1.0	6.8	92.2
Yogures de frutas	1.0	3.9	95.1
Yogures desnatados	1.0	5.8	93.2
Yogures con grasa vegetal tipo Millac	0.0	1.9	98.1
Nata, crema de leche	1.9	1.0	97.1
Queso tierno o fresco	1.9	4.9	93.2
Queso semiseco (majorero, palmero,...)	2.9	1.9	95.1
Queso seco (majorero, manchego)	3.9	1.9	94.2

También se observó que el 11,7% de las mujeres encuestadas incrementaron la ingesta de leches fermentadas y también aumentaron ligeramente el consumo de leche entera (tabla 69).

Tabla 70. Modificación del consumo de dulces durante el embarazo

DULCES	Disminuye (%)	Aumenta (%)	No se modifica (%)
Azúcar	3.9	0.0	96.1
Miel	0.0	2.9	97.1
Bollería (matahambre, "croissants", donuts)	10.7	9.7	79.6
Dulces y pasteles	8.7	3.9	87.4
Galletas	6.8	1.9	91.3
Caramelos y golosinas	5.8	9.7	84.5
Chocolate	14.6	7.8	77.7
Helado	11.7	28.2	60.2

La tabla 70 muestra la modificación del consumo de dulces durante el embarazo. En ella se observa que aproximadamente un 30% de las mujeres del estudio aumentaron el consumo de helado durante el embarazo.

Tabla 71. Modificación del consumo de bebidas durante el embarazo

BEBIDAS	Disminuye (%)	Aumenta (%)	No se modifica (%)
Bebidas refrescantes con gas	25.2	5.8	68.9
Bebidas refrescantes sin gas	4.9	4.9	90.3
Café	27.2	1.0	71.8
Té	10.7	3.9	85.4
Cerveza	25.2	0.0	74.0
Vino de mesa, champagne - cava	27.2	0.0	72.8
Chupito de melocotón, manzana	15.5	0.0	84.5
Licores, brandy (ginebra, ron), whisky, combinado	23.3	0.0	76.7
Vodka, aguardiente	8.7	0.0	91.3
Agua mineral sin gas	6.8	30.1	63.1
Agua mineral con gas	7.8	8.7	83.5

En general, disminuye el consumo de bebidas refrescantes con gas, té, café y bebidas alcohólicas durante el embarazo en las mujeres del presente estudio (tabla 71).

Tabla 72. Modificación del consumo de salados durante el embarazo

SALADOS	Disminuye (%)	Aumenta (%)	No se modifica (%)
Sal	1.0	2.9	96.1
Frutos secos (almendras, pistachos,...)	4.9	7.8	87.4
Aceitunas	4.9	1.9	93.2

Aproximadamente el 8% de las mujeres encuestadas aumentaron la ingesta de frutos secos durante el embarazo (tabla 72).

Tabla 73. Modificación del consumo de grasas y aceites durante el embarazo

GRASAS - ACEITES	Disminuye (%)	Aumenta (%)	No se modifica (%)
Mantequilla	1.9	1.9	96.1
Margarina	1.0	1.9	97.1
Aceite de oliva	1.0	1.0	98.1
Aceite de oliva virgen	0.0	1.9	98.1
Aceite de girasol o soja	0.0	1.9	98.1
Aceite de maíz	0.0	1.9	98.1
Mayonesa	7.8	0.0	92.2
Tocino, manteca de cerdo	1.0	0.0	99.0
Ketchup, mostaza	4.9	0.0	95.1

En general, no se observaron modificaciones en el consumo de grasas y aceites durante el embarazo. Sólo un pequeño porcentaje de las mujeres del estudio disminuyeron el consumo de mayonesa, ketchup y mostaza durante el embarazo (tabla 73).

4.5.3. Consumo de alimentos e ingesta media diaria de energía y nutrientes

En la tabla 74 se observa el consumo medio diario durante el embarazo de los distintos grupos de alimentos, advirtiéndose un elevado consumo diario de queso, frutas, verduras y bebidas azucaradas. Por otra parte, se observó una disminución en el consumo de carnes, grasas, salsas, patatas y embutidos a medida que aumentaba la edad. Por el contrario, se observó que con el aumento de la edad, aumentaba el consumo de otros alimentos como el pescado, los frutos secos, la leche, el queso, el yogur y la bollería (datos no mostrados).

Tabla 74. Consumo medio diario durante el embarazo de los distintos grupos de alimentos

Alimento	Media	DE	P ₅	P ₂₅	P ₅₀	P ₇₅	P ₉₅
Carnes	66,9	39,7	16,5	38,3	59,4	92,6	152,7
Huevo	23,9	16,4	8,6	17,1	21,4	25,7	60,0
Pescado	56,6	34,5	10,9	33,4	49,8	70,2	124,9
Leche	536,7	322,9	0	337,5	450,0	675,0	1125,0
Queso	71,3	68,0	0	25,7	47,1	94,3	220,0
Yogur	160,1	111,7	0,8	71,4	125,0	250,0	375,0
Otros lácteos	72,0	72,7	0	16,2	53,4	104,7	204,9
Cereales	133,3	44,1	71,8	98,4	129,5	158,3	214,5
Frutas	663,5	391,6	211,3	383,9	589,0	849,6	1468,4
Verduras y hortalizas	481,2	257,4	149,5	276,8	432,1	654,9	931,5
Legumbres	30,6	25,3	1,1	12,9	25,7	38,6	90,0
Frutos secos	6,7	9,0	0	0,11	2,2	9,6	27,0
Patatas	47,8	30,5	13,3	28,6	42,9	64,3	114,3
Embutidos	28,5	27,7	1,3	11,4	22,9	40,0	61,7
Bollería	10,8	16,5	0	0	7,1	14,3	50,0
Dulces	64,1	44,3	6,6	31,6	57,8	88,7	151,7
Aceites	32,9	18,7	10,0	20,0	30,0	45,0	64,0
Grasas	6,7	6,2	0	1,6	4,3	12,0	13,6
Salsas	6,0	9,9	0	1,1	3,6	7,2	19,4
Bebidas azucaradas	317,9	306,9	0	142,8	228,6	400,0	1085,7
Bebidas alcohólicas	6,8	19,8	0	0	0	2,5	54,3

Consumo en g o cc/persona/día; DT: desviación estándar; P: percentil

En la figura 44 se expresa el consumo en forma de porcentaje de los diferentes grupos de alimentos sobre el consumo total de alimentos.

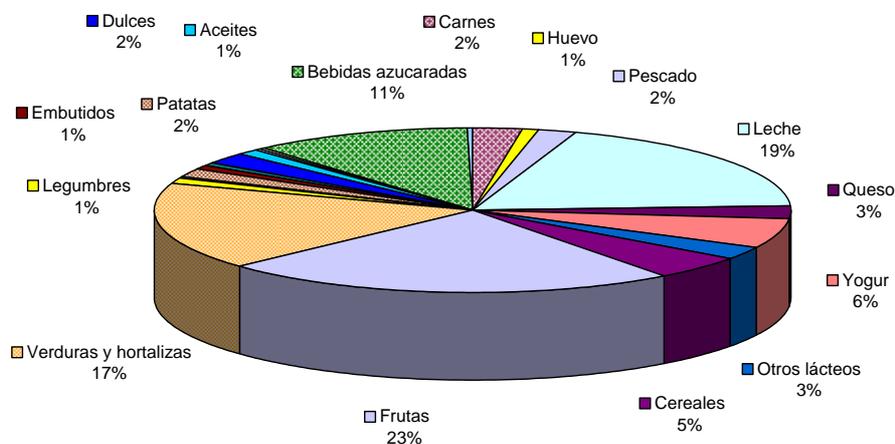


Figura 44. Distribución porcentual del consumo medio diario de los grupos de alimentos durante el embarazo

Tabla 75. Ingesta media diaria de energía y nutrientes

	Media	DE	P ₅	P ₂₅	P ₅₀	P ₇₅	P ₉₅
Energía (kcal.)	2808,3	773,8	1854,3	2257,4	2708,7	3216,1	4534,7
MACRONUTRIENTES							
Glúcidos (g)	313,0	94,5	208,3	237,2	291,6	366,9	520,2
(% VCT)	44,9	7,4	33,9	39,1	45,0	49,9	57,3
Proteínas (g)	106,8	29,6	70,0	83,4	100,7	127,7	166,9
(% VCT)	15,4	2,7	11,6	13,5	15,1	16,5	21,1
Lípidos (g)	133,9	46,3	60,0	104,9	131,8	155,5	233,1
(% VCT)	42,4	7,1	27,4	37,6	42,9	48,1	52,3
AGS (g)	47,2	21,2	21,6	31,8	42,8	60,0	90,4
AGMI (g)	56,3	20,0	22,5	43,7	54,5	68,9	98,7
AGPI (g)	15,6	5,4	7,6	11,6	15,3	18,7	26,5
Colesterol (mg)	441,1	162,8	249,5	331,9	406,5	508,8	810,4
Fibra (g)	28,7	10,6	14,9	20,9	27,2	33,9	51,1
Alcohol (g)	0,4	0,9	0	0	0	0,2	2,7
MINERALES							
Calcio (mg)	2055,9	756,0	1097,6	1483,3	1886,8	2472,9	3704,5
Hierro (mg)	16,8	4,5	10,4	13,3	16,7	19,5	25,3
Magnesio (mg)	481,8	142,6	293,6	366,5	456,8	576,1	798,9
Sodio (mg)	4685,4	1669,1	2379,3	3715,9	4491,1	5261,5	8469,1
Potasio (mg)	4973,2	1484,1	3021,6	3754,9	4715,8	5903,6	7787,4
Fósforo (mg)	2293,9	721,1	1368,5	1735,7	2057,2	2769,6	3576,4
VITAMINAS							
Tiamina (mg)	1,8	0,5	1,1	1,4	1,7	2,2	2,7
Riboflavina (mg)	3,2	1,1	1,8	2,4	2,9	3,8	5,4
Niacina (mg)	31,1	9,8	17,1	24,0	29,6	38,1	49,1
Folatos (µg)	419,0	156,6	210,1	296,9	411,2	511,8	660,6
Vit. B6 (mg)	2,9	0,9	1,7	2,3	2,7	3,4	4,7
Vit. B12 (µg)	13,4	9,6	5,8	8,5	10,7	14,4	27,7
Vit. C (mg)	341,7	175,3	120,1	238,42	310,4	421,1	655,8
Vit. A (µg)	1880,6	1088,2	797,1	1147,0	1632,8	2295,6	3952,8
Vit. D (µg)	7,2	5,0	1,8	3,4	6,1	9,9	17,1
Vit E (mg)	15,6	6,1	7,8	10,9	14,8	19,8	26,0

VCT: valor calórico total; AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; DE: desviación estándar; P: percentil

El consumo medio de energía y nutrientes durante la gestación y su distribución en el total de la muestra se expone en el tabla 75. Al comparar los datos de esta población con la ingesta recomendada de energía y nutrientes para la segunda mitad del embarazo en mujeres de 20 a 39 años¹⁴⁶ se observó que un importante porcentaje de gestantes no alcanzaron el 50% de la ingesta recomendada de hierro, folatos y vitamina D (36,9%, 26,2% y 38,8% respectivamente). Sin embargo, más de un 30% de la población superó el 200% de la ingesta recomendada para las proteínas, tiamina, niacina, riboflavina, vitaminas A y C (tabla 76).

Tabla 76. Porcentaje de mujeres con ingesta inferior o superior a la ingesta recomendada de energía y nutrientes para la segunda mitad del embarazo en mujeres de 20 a 39 años

	Ingesta* Recomendada	Porcentaje de mujeres						
		<30% IR	<50% IR	<66% IR	<75% IR	<100% IR	>150% IR	>200% IR
Energía (kcal.)	2550	-	-	2,9	6,8	43,7	10,7	1,0
Proteínas (g)	56	-	-	-	-	1,9	72,8	36,9
MINERALES								
Calcio (mg)	1400	-	-	1,9	1,9	21,4	39,8	14,6
Hierro (mg)	30	1,0	36,9	77,7	87,4	100	-	-
Magnesio (mg)	450	-	-	4,9	12,6	47,6	10,7	1,0
VITAMINAS								
Tiamina (mg)	1,0	-	-	-	-	-	69,9	34,0
Riboflavina (mg)	1,6	-	-	-	-	1,9	74,8	44,7
Niacina (mg)	17	-	-	-	1,0	4,9	69,9	34,0
Folatos (µg)	600	1,9	26,2	45,6	63,1	88,3	1,0	-
Vit. B6 (mg)	2,0	-	-	1,0	1,0	12,6	37,9	13,6
Vit. B12 (µg)	2,2	-	-	-	-	-	100	100
Vit. C (mg)	80	-	1,0	1,0	1,0	1,0	95,1	87,4
Vit. A (µg)	800	-	-	-	-	4,9	73,8	52,4
Vit. D (µg)	10	18,4	38,8	55,3	61,2	78,6	7,8	1,0
Vit E (mg)	15	-	1,9	19,4	26,2	51,5	13,6	1,9

IR: ingesta recomendada; * Datos obtenidos de Ortega RM¹⁴⁶.

4.5.4. Calidad de la dieta en el embarazo: *Healthy Eating Index*

La tabla 77 muestra el puntaje total y de cada componente del HEI. El puntaje del índice fue de 54,9. Esta puntuación se aleja de la puntuación óptima de ≥ 80 requerida para calificar como buena la calidad de la dieta de las embarazadas de esta población de estudio. En cuanto a la puntuación media de los 5 primeros componentes del índice, se observó que el consumo de cereales se encontraba por debajo de las raciones diarias recomendadas para embarazadas (7-8 raciones/día), siendo el consumo de vegetales, frutas, lácteos, y carnes superior a las recomendaciones (4-5 raciones/día, 3 raciones/día, 3-4 raciones/día y 2-3 raciones/día, respectivamente).

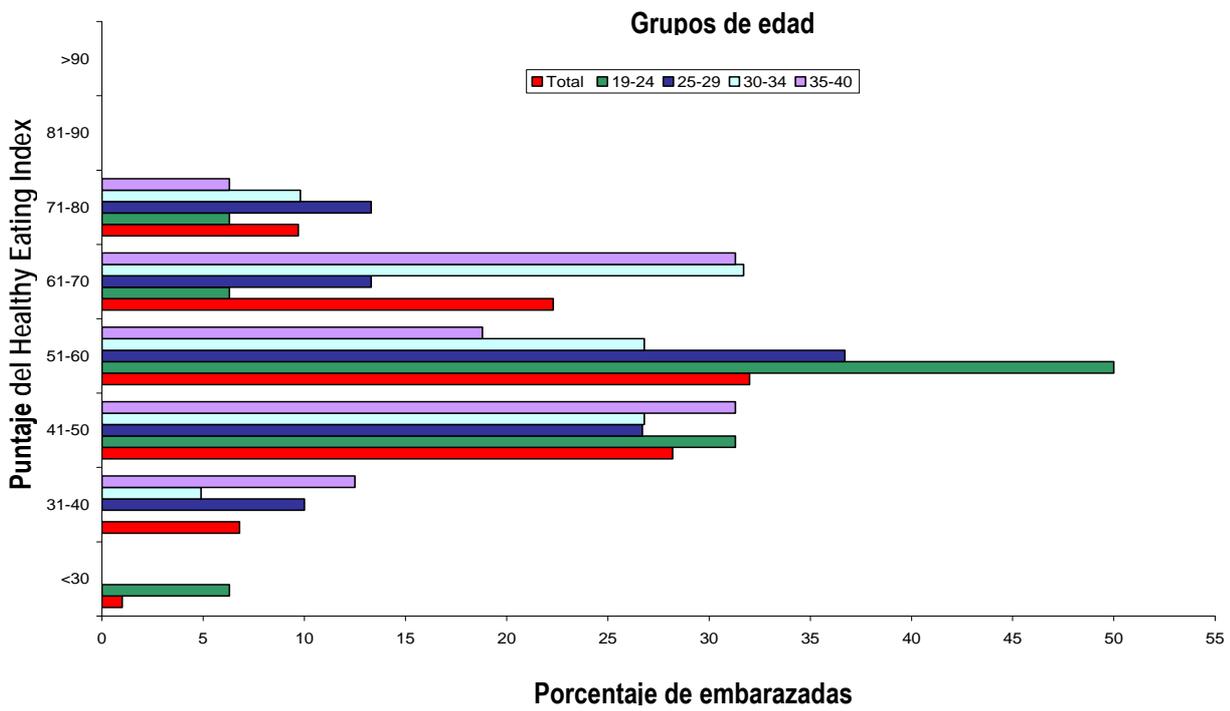
Tabla 77. Puntaje total y de cada componente del *Healthy Eating Index* en embarazadas sanas

HEI ítems	Media (DE)	Rango	% Puntaje = 0	% Puntaje = 10
Cereales	3,5 (1,4)	0-8	1	0
Vegetales	6,9 (2,6)	2-10	0	30,1
Frutas	8,5 (2,3)	1-10	0	59,2
Lácteos	9,3 (1,7)	0-10	1	78,6
Carnes ^a	8,1 (2,0)	3-10	0	41,7
Grasa total	2,7 (3,0)	0-10	36,9	5,8
Grasa saturada	3,4 (3,8)	0-10	41,7	12,6
Colesterol	3,9 (3,9)	0-10	37,5	18,4
Sodio	2,8 (3,1)	0-10	37,9	4,9
Variedad	5,7 (1,9)	1-10	0	1,9
Total	54,9 (10,9)	29-79		

DE: desviación estándar; ^a Incluye huevos, frutos secos, y legumbres

Al observar la distribución de la población según el HEI por grupos de edad (figura 45) advertimos que el 50% de las embarazadas con edad comprendida entre 19-24 años obtuvo un puntaje entre 51-60. En el rango de puntaje 71-80 (máxima puntuación alcanzada por las mujeres del presente estudio) se distingue que el porcentaje más alto de embarazadas (13,3%) correspondió al grupo de edad comprendido entre 25-29 años.

Figura 45. Distribución de la población según el *Healthy Eating Index* por grupos de edad



5. Discusión

5.1. INMUNIDAD MATERNA

El presente estudio encontró que el consumo de leche fermentada con *Lactobacillus casei* durante el puerperio muestra una leve tendencia a modular la respuesta inmune. Luego del consumo de leche fermentada con *Lactobacillus casei* durante el puerperio se observó un aumento significativo de células NK y un aumento no significativo de linfocitos T y linfocitos B. En relación a los perfiles Th1/Th2 y Tc1/Tc2 no se observaron diferencias significativas entre grupos durante el período de estudio. Estos datos son contradictorios a los de otros autores, quienes observaron que el consumo de probióticos en otras poblaciones, produce un aumento de IFN- γ ¹⁵⁰⁻¹⁵³ aumentando por tanto el perfil Th1/Th2. No obstante, en estos estudios la concentración de IFN- γ fue cuantificada directamente.

La expresión de la mayoría de las citocinas está estrictamente regulada. En general, no se detecta una producción significativa de estas moléculas, siendo necesaria la activación celular para que se produzcan citocinas en cantidades suficientes para ejercer sus efectos biológicos. Son moléculas que poseen una vida media muy corta y actúan a muy bajas concentraciones, del orden de picogramos, mediante la unión a receptores de alta afinidad presentes en la superficie celular.

El IFN- γ es producido por linfocitos Th1 y por células NK. Además de su efecto antiviral posee una importante actividad inmunomoduladora. Incrementa la expresión de moléculas de HLA de clase I y II en varios tipos celulares, y en el reconocimiento de antígenos lo que facilita su función presentadora de Ag y es un potente activador de los macrófagos, incrementando su capacidad tumoricida y microbicida. Actúa también de forma autocrina sobre las propias células NK que lo producen, aumentando su actividad citolítica y, como consecuencia, incrementando su efecto antitumoral. Sobre los linfocitos Th2 inhibe la proliferación, de manera que su presencia durante la estimulación antigénica induce la diferenciación de linfocitos T hacia células efectoras tipo Th1 favoreciendo, por tanto, el desarrollo de las respuestas inflamatorias.

La citocina IL-4 es producida por linfocitos Th2, mastocitos, basófilos, células del estroma de la médula ósea y, posiblemente, por determinadas subpoblaciones de células NK. Es una citocina muy pleiotrópica, ya que ejerce numerosos efectos en diferentes tipos celulares. Promueve la diferenciación de linfocitos T vírgenes hacia células de tipo Th2, inhibiendo la generación de células Th1. Posee efectos inmunosupresores, ya que inhibe la producción de determinados mediadores inflamatorios de los macrófagos. Por otra parte, promueve el desarrollo

de las respuestas inmunes humorales a través de la inducción del crecimiento y diferenciación de linfocitos B, produciendo el cambio isotípico hacia IgG4 e IgE. Por todo ello, los efectos de esta citocina se han relacionado con el desarrollo de los procesos alérgicos y con el incremento de IgE en las infecciones parasitarias.

En el presente estudio se analizó el porcentaje de células T CD3+CD8- y T CD3+CD8+ secretoras de INF- γ . En tal sentido, cabe destacar que como se observó un aumento de células CD3+ y CD8+ en el grupo intervención, esto pudo provocar una alteración de los valores porcentuales o relativos, lo cual podría dificultar poner de manifiesto un aumento de células productoras de INF- γ en el grupo que consumió leche fermentada con *Lactobacillus casei*. Para minimizar estos efectos, se calculó el valor absoluto de las células T CD8- y CD8+ secretoras de INF- γ , pero tampoco se detectaron diferencias entre grupos en los perfiles Th1/Th2 y Tc1/Tc2.

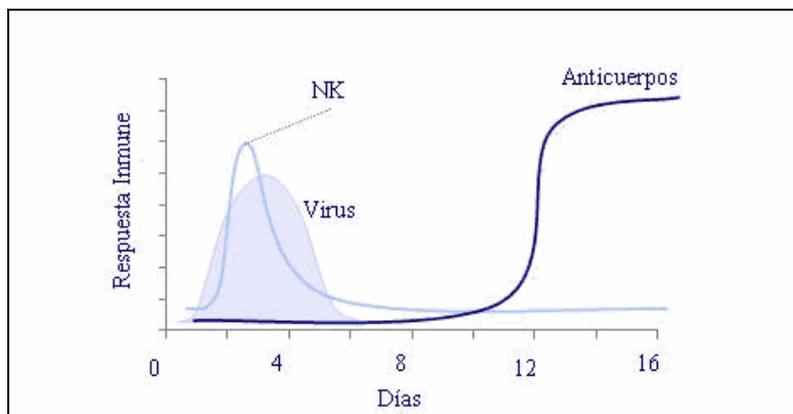
Una posible explicación de esta divergencia podría ser que los complejos cambios que acontecen en la inmunidad de la madre durante el embarazo y el puerperio destinados a la protección del recién nacido, hacen que el efecto del consumo de leche fermentada con *Lactobacillus casei* en la madre sea menor al observado en otras circunstancias. Para proteger el recién nacido, la inmunidad de la madre sufre complejos cambios durante el embarazo y el puerperio¹⁵⁴. Durante el embarazo el sistema inmunológico de la madre se modifica para evitar el rechazo del feto¹⁵⁵, aunque los mecanismos precisos que desarrolla el sistema inmune de la madre aún no son completamente entendidos¹⁵⁶. La supervivencia del feto parece depender considerablemente en la modulación de la respuesta inmune para evitar que se produzca el rechazo del mismo¹⁵⁷.

En general se admite que para el adecuado mantenimiento de un embarazo es preciso una modificación del equilibrio Th1/Th2 hacia un perfil Th2⁶³. Según esta interpretación, un predominio Th1 se asociaría a un aumento de abortos espontáneos⁶⁴. Estudios previos han comprobado que en la sangre periférica de las mujeres embarazadas existe un predominio de respuestas Th2. Así, Kruse y col.⁶⁵ estudiaron la expresión de mRNA en linfocitos de sangre periférica de mujeres durante del embarazo y en el puerperio y lo compararon con los resultados obtenidos en mujeres no embarazadas. Estos autores observaron una relación IL-4/INF- γ significativamente superior en el primer y segundo trimestre del embarazo con respecto a la relación hallada tanto en mujeres no embarazadas como en mujeres analizadas durante el puerperio. Reinhard y col.⁶⁶ estudiaron, mediante citometría de flujo, la expresión de linfocitos

CD4+ secretores de IL-4 y de IFN- γ . Encontrando un aumento de los niveles de IL-4 y un descenso de los niveles de IFN- γ en mujeres embarazadas con respecto a mujeres no embarazadas. Otros trabajos han evaluado las diferencias en la producción de citocinas entre mujeres con embarazos normales y en mujeres con abortos de repetición. En este sentido, Hill y col.⁶⁷ observaron que las células mononucleares sanguíneas de mujeres con abortos de repetición estimuladas con extractos trofoblásticos generaban IFN- γ , mientras que las de mujeres con embarazos normales producían preferentemente IL-10. Estos datos han sido corroborados por el grupo de Raghupathy⁶⁸⁻⁷⁰ que observó que las células mononucleares de sangre periférica estimuladas con fitohemaglutinina en mujeres con embarazos normales producían citocinas Th2 mientras que en mujeres con abortos de repetición estaba aumentada la producción de citocinas Th1.

Por tanto, se considera al posparto como el tiempo para la recuperación de los profundos cambios inmunológicos que se producen durante el embarazo. Esto podría inducir un compleja respuesta inmunológica que podría atenuar los efectos de *L. casei* sobre la respuesta inmune sistémica durante puerperio.

Figura 46. Tras una infección viral las células NK responden en los primeros días

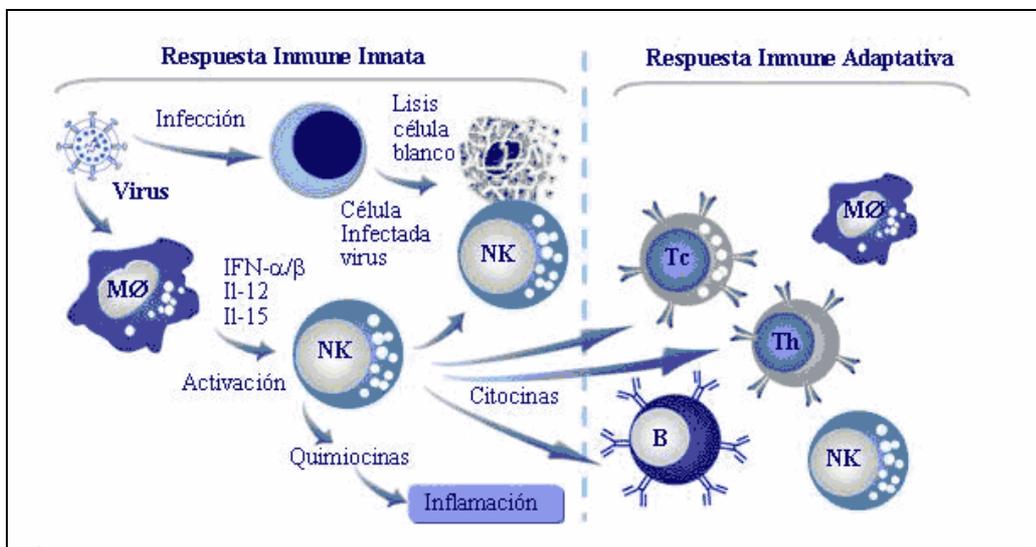


Fuente: M. López-Botet y J. Peña. Activación células NK⁵⁸.

En línea con otros estudios^{19,50,150}, el estudio de las subpoblaciones linfocitarias se ha observado un aumento significativo del número de células NK en el grupo que consumió *Lactobacillus casei*. Las células NK participan activamente en la defensa del organismo frente a infecciones, principalmente de tipo viral y frente al crecimiento de células tumorales. Estas células participan tanto en la defensa innata y como en los mecanismos de defensa adquirida o

adaptativa. La función esencial de estas células es identificar y destruir células diana. También es importante su función reguladora del sistema inmune debido a su capacidad secretora tanto de citocinas como de quimiocinas. La citotoxicidad natural consiste en la lisis de una gran variedad de células de manera espontánea y sin necesidad de un periodo de sensibilización previa. Esto implica que estas células no requieren un proceso preparatorio de activación para destruir células en los términos que lo hacen los linfocitos T citotóxicos, pero la activación por células blanco o por citocinas hace que esta función sea más eficiente. Las células NK forman parte de la primera barrera defensiva del individuo junto con macrófagos y polimorfonucleares (figura 46). Las células NK constituyen parte de la respuesta inmune innata. Ciertas citocinas que potencian el efecto de estas células son producidas precisamente por macrófagos en las primeras fases de la infección. Las células NK actúan destruyendo células (por ejemplo infectadas por virus) y produciendo citocinas y quimiocinas, que intervienen regulando el sistema inmune y el proceso inflamatorio (figura 47). Las células NK y NK T-like (CD3+CD56+) producen IFN- γ ¹⁵⁸.

Figura 47. Las células NK participan en la respuesta inmune innata mediante la lisis de células, este caso infectadas por virus, producción de citocinas, IFN- γ y quimiocinas



Fuente: M. López-Botet y J. Peña. Activación células NK⁵⁸.

En concordancia con estudios previo^{150,159} se observó un número mayor de células T CD3+, TCD19+, TCD8+ y NK T-like en el grupo que consumió leche fermentada con *Lactobacillus casei*, no obstante este aumento no alcanzó significación estadística.

Las inmunoglobulinas son glicoproteínas que están formadas por cadenas polipeptídicas agrupadas, dependiendo del tipo de inmunoglobulina, en una o varias unidades estructurales básicas. La IgG se sintetiza tardíamente tras un primer contacto con el antígeno, sin embargo, tras un segundo contacto la mayoría de las Igs formadas pertenecen a esta clase (Respuesta Secundaria). En suero la IgG es la inmunoglobulina más abundante y representan más del 70 % de las Igs séricas totales; las diferentes subclases se presentan en proporciones muy diferentes. La IgG₁ es la subclase más frecuente (más del 60 %), seguida de la IgG₂ (aproximadamente un 18 %), mientras que IgG₃ e IgG₄ se encuentran en mucha menor proporción.

Los anticuerpos del tipo IgM son los que se forman en respuesta a un estímulo antigénico (Respuesta primaria). Representa del 5 al 10 % de las Igs séricas totales y junto a la IgD es la más frecuentemente encontrada en la superficie de los linfocitos B como inmunoglobulina de membrana.

La IgA posee capacidad neutralizante y precipitante, mientras que su capacidad de fijar complemento y de opsonización son muy débiles, limitándose su efecto a neutrófilos y no a macrófagos. La propiedad más importante de esta inmunoglobulina viene determinada por su capacidad de unirse por el extremo Fc (fragmento cristizable de una molécula de inmunoglobulina) a la pieza secretora, gracias a la cual puede ser secretada por las mucosas y glándulas exocrinas, ejerciendo su acción más importante en la superficie de mucosas y líquidos biológicos (sobre todo IgA₂), tales como el líquido cefalorraquídeo, secreción bronquial, lágrima, saliva, etc. Esto es importante porque así protegen precisamente los puntos más vulnerables del organismo, esto es, las puertas de entrada al mismo, como son ojos, boca, aparato digestivo, sistema respiratorio, vagina, etc. Esta inmunoglobulina se encuentra también en la leche materna. Los niveles de todas las inmunoglobulinas, a excepción de la IgG en recién nacidos son muy bajos, siendo por tanto de gran significación el hecho de que la IgA se transfiera desde la madre al lactante a través de la secreción láctea.

La IgE se encuentra en forma libre en sangre y suele encontrarse elevada en individuos alérgicos en los que esta inmunoglobulina puede llegar a presentarse en grandes cantidades. La vida media de la IgE en sangre periférica es de 24-48 horas.

A través de la valoración de las inmunoglobulinas se evalúa la funcionalidad de los linfocitos B. Al analizar los resultados obtenidos en el presente estudio no se hallaron diferencias

significativas entre grupos en la concentración plasmática de inmunoglobulinas durante el período de estudio. Estos resultados están en contraste con estudios previos^{121,160}.

En relación a los efectos sobre la IG e IgE se observó una menor concentración de concentración de IgG2, IgG4 e IgE durante período de estudio en el grupo que consumió leche fermentada con *Lactobacillus casei*. Una posible explicación de estos resultados, podría justificarse por una menor actividad Th2 en el grupo intervención, como ha sido sugerido previamente en otros estudios con probióticos^{121,159,161}.

En un estudio rutinario de hematimetría se cuantificaron y evaluaron diferentes grupos celulares, las glóbulos rojos (hematíes), los glóbulos blancos (leucocitos), las plaquetas, el contenido de hemoglobina, y otros parámetros relacionados con su cantidad, forma y contenido. En relación con nuestros resultados, se apreció en el grupo que consumió leche fermentada con *Lactobacillus casei* una mejora de los parámetros de la serie roja (hematíes, hemoglobina, hematocrito) en comparación con la situación basal, siendo esta mejora significativa sólo en la determinación del número de hematíes.

En cuanto el recuento total de plaquetas, en nuestro estudio observó que existe un aumento en el número de plaquetas en comparación a la situación basal en el grupo intervención, mientras que en el grupo control disminuye, sin embargo esta variación no es significativo.

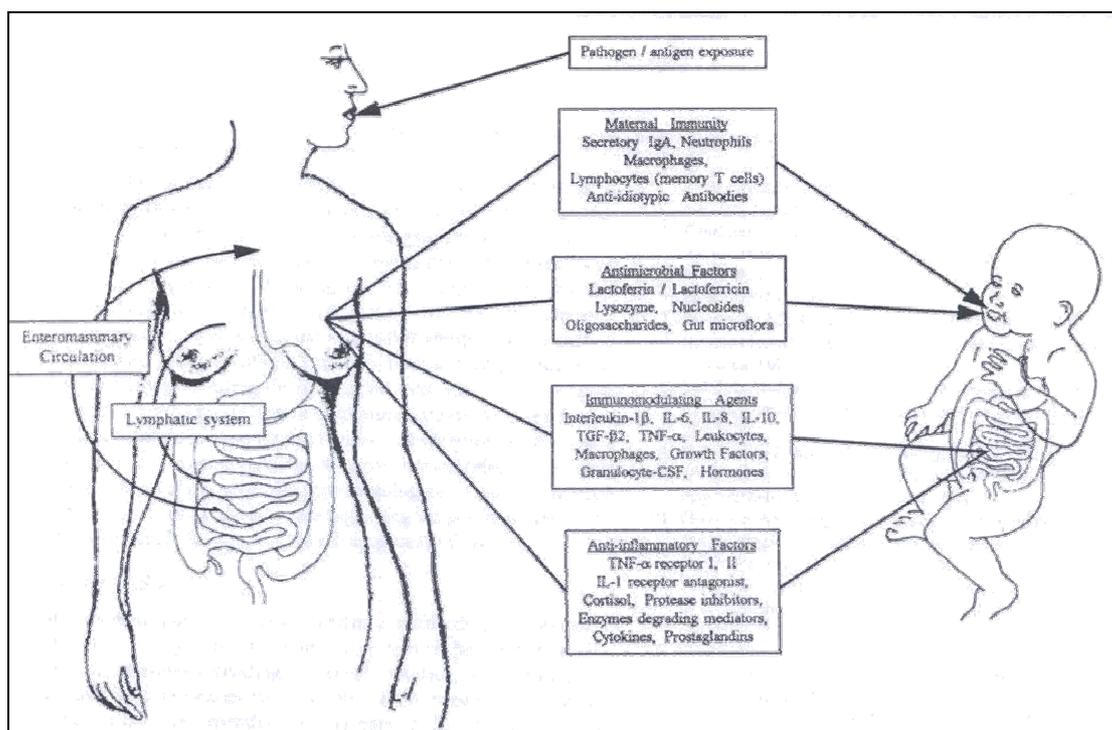
En relación a los glóbulos blancos existen diferentes grupos, los llamados polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y los mononucleares (linfocitos y monocitos). Los leucocitos neutrófilos son los más numerosos y porcentualmente los más significativos que se encuentran. Su función es la fagocitosis que se entiende como si fuera una absorción y digestión de sustancias extrañas (bacterias, cuerpos extraños, tejidos etc). Las formas inmaduras que aparecen cuando hay un estímulo intenso medular para su producción se llaman cayados (por la forma del núcleo); suele indicar la existencia de actividad intensa de las defensas contra infecciones por bacterias. Los leucocitos eosinófilos se llaman así por el color rojo en el que aparecen al microscopio por una tinción con *eosina*. Suelen estar elevados en ciertas enfermedades causadas por alergia o por infecciones parasitarias. Los basófilos suelen tener un comportamiento similar. Los leucocitos mononucleados son los linfocitos y los monocitos. Tienen un núcleo celular único y pequeño. Sus funciones son las combatir

infecciones virales y bacterianas crónicas. En los resultados obtenidos en nuestro estudio, no se observaron diferencias significativas entre grupos, respecto al nivel basal en los parámetros estudiados en la fórmula leucocitaria.

5.2. LECHE MATERNA Y SEGUIMIENTO DEL NIÑO

La leche materna constituye el mejor alimento para el recién nacido durante los primeros seis meses de su vida. En primer lugar satisface todos sus requerimientos nutritivos durante esta etapa de rápido crecimiento. En segundo lugar, diversos estudios han demostrado que la leche de la madre confiere al recién nacido una notable protección frente a enfermedades infecciosas^{162,163}.

Figura 48. Componentes de la leche materna que pueden afectar el sistema inmune del recién nacido



Fuente: Bo Lonnerdal. *Immunological considerations of breast milk*¹⁶⁴.

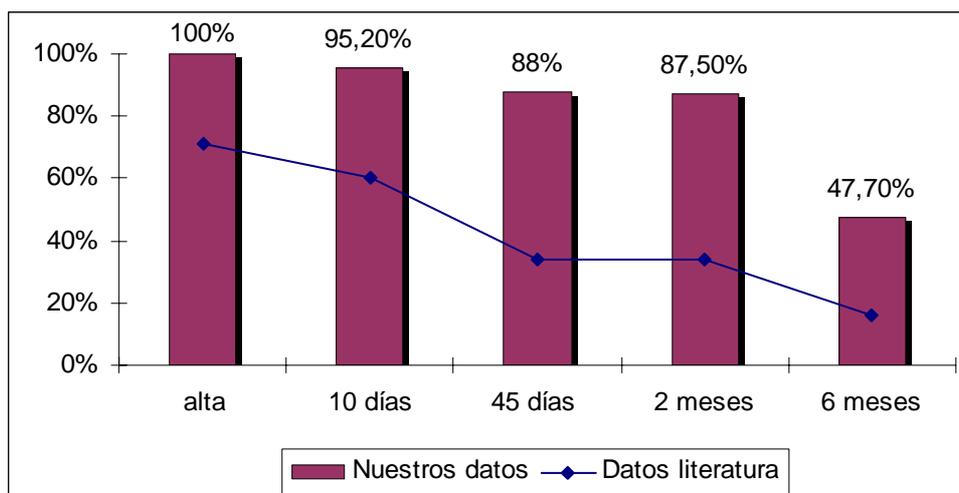
Este efecto puede ser debido a la acción combinada de algunos componentes de la leche (figura 48), como inmunoglobulinas, linfocitos, macrófagos y diversas sustancias con propiedades antimicrobianas^{165,166}. Además, la leche materna también contiene sustancias

prebióticas que estimulan de forma selectiva el crecimiento de bacterias deseables en el intestino infantil^{167,168}. La composición de la microbiota intestinal infantil está profundamente influenciada por la dieta y la introducción de alimentos sólidos y la retirada progresiva de la leche coincide con cambios drásticos en la microbiota¹⁶⁹.

A pesar de todas las ventajas que aporta la leche materna, la prevalencia de lactancia materna exclusiva al alta hospitalaria en Gran Canaria es del alrededor del 52,8%¹⁷⁰. Esto nos ocasionó dificultades en el momento de la inclusión de pacientes al estudio, dado que muchas madres no pudieron entrar en el estudio por dificultades para la instauración de la lactancia materna. La lactancia requiere un aprendizaje. Muchas madres descubren tras el parto que no saben cómo han de dar el pecho y afrontan con intranquilidad los problemas iniciales. Las dificultades en el acoplamiento del niño, el retraso en la subida de la leche, el dolor de la ingurgitación mamaria o trastornos de la succión, se superan fácilmente si la madre los conoce previamente, sin embargo provocan el abandono de la lactancia si la madre no está informada y preparada. Las madres, que dan el pecho exigen más paciencia y dedicación que las que optan por el biberón. El personal de las plantas de maternidad también necesita ser adiestrado para ofrecer ayuda e información a la madre sin caer en contradicciones.

Para tratar de paliar esta situación, recibieron información y apoyo para la instauración de la lactancia materna tras el parto. Previamente, durante las últimas semanas del embarazo, las mujeres preseleccionadas para el estudio que cumplieron en el momento de la preselección los criterios de inclusión recibieron charlas informativas en la Universidad y en los Centros de Salud a y también se les entregó material escrito para reforzar los conocimientos sobre lactancia materna. Además, durante el período de lactancia tenían un número de teléfono disponible las 24hs al cual podían consultar para resolver las dudas o los problemas que surgieron durante este período.

En este grupo de mujeres, pudimos observar que el mantenimiento de lactancia materna hasta los 6 meses mostró una prevalencia mayor que la descrita en la literatura para población canaria (71% al alta, 60,3% a los 15 días, 33,8% a los 3 meses y 16,2% a los 6 meses). En la figura 49 se refleja la evolución de la lactancia materna en los 6 meses tras el parto.

Figura 49. Evolución de la lactancia materna hasta los 6 meses en la muestra y en Canarias

Durante el período de estudio no se observaron cambios significativos en la concentración de TGF β 1, TGF β 2, IL1 β , IL-6, IL-8, IL-12, e IgA en leche materna.

Respecto al TGF: existen dos tipos de factores transformadores del crecimiento, el TGF- α y el TGF- β , que no poseen ninguna similitud estructural ni comparten los mismos efectos. Solamente el TGF- β tiene efectos inmunomoduladores. Es producido por linfocitos T, plaquetas y otros muchos tipos celulares. Su nombre responde a la observación inicial de que inducía cambios fenotípicos en los fibroblastos de rata. Incrementa la proliferación de fibroblastos, osteoblastos y células musculares lisas e incrementa la síntesis de proteínas de la matriz extracelular, lo que favorece la curación de las heridas. Esta citocina tiene también efectos inmunosupresores ya que se observó que inhibía el crecimiento y la función de muchos tipos celulares. En el sistema inmune inhibe la síntesis y/o el efecto del IFN- γ , TNF- α , TNF- β , IL-1, IL-2 e IL-3, así como la citotoxicidad natural y específica.

El TGF- β es producido por células tipo Th3¹⁷¹, y se ha enfatizado el papel supresor/regulador de estas células en el desarrollo de de la alergia y de la tolerancia¹⁷² inmunológica frente al contenido intestinal.

Las concentraciones de TGF- β 1 y TGF- β 2 determinadas en las muestras de leche materna de nuestro estudio son algo mayores a los datos observados en la bibliografía^{118,149,173-177} y no se han encontrado diferencias significativas entre grupos, en relación a la variación entre la visita inicial y la visita final del estudio.

En este sentido, los probióticos han demostrado revertir el incremento de la permeabilidad intestinal y potenciar las respuestas IgA específicas del intestino, promoviendo de esta manera sus mecanismos de defensa de barrera, los cuales son frecuentemente defectuosos en niños con eccema atópico y alergia a alimentos^{173,174,178}.

Algunos probióticos han demostrado contribuir al procesamiento de los antígenos alimentarios y reducir su alergenicidad *in vitro* e *in vivo*. El consumo de *lactobacillus* durante el embarazo y la lactancia han demostrado incrementar la concentración TGF- β en leche materna¹¹⁸. Este último hallazgo no ha podido ser puesto de manifiesto con los resultados obtenidos en nuestro estudio.

La citocina IL8, es una citocina con actividad proinflamatoria cuya producción puede ser estimulada por el TNF- α , por ello valores bajos de TNF- α , inducirán una menor producción de IL8, como ocurre en el grupo intervención. La mediana de la variación porcentual de la concentración de IL-8 entre los valores basales de la variable (visita 1) y la visita final (visita 3), disminuye en ambos grupos, no habiendo diferencias con significación estadística entre grupos, no obstante la concentración de IL8 determinada en las muestras de leche de nuestro estudio es menor a la hallada por otros autores¹⁷⁹.

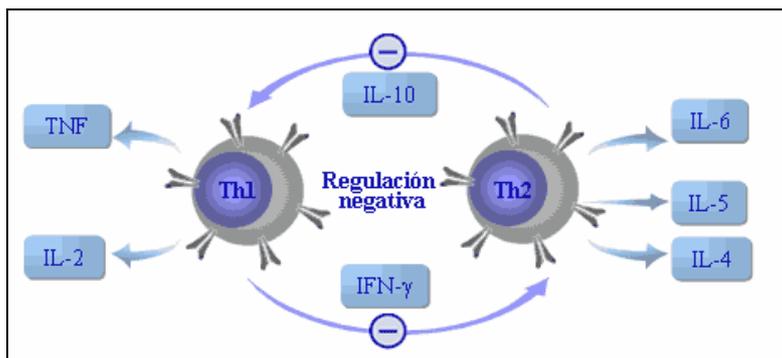
En leche materna se encuentra inmunoglobulina A (IgA) en su forma secretora, muy importante para la inmunidad del recién nacido, donde presenta inmadurez tanto en sus sistemas digestivos como inmunitarios. El recién nacido no va a producir por sí mismo esta inmunoglobulina hasta la cuarta o sexta semana de vida, por lo que deberá obtenerla antes de esta edad, a través de la leche materna. La leche de vaca y la leche de fórmula para lactantes no contienen IgA, por lo que si el recién nacido no la ha obtenido del calostro materno, su intestino puede aparecer más permeable a los alérgenos¹⁷⁸.

En los resultados observados en nuestro estudio, no existen diferencias significativas entre grupos, en relación a la variación porcentual de la de la concentración de IgA, siendo las concentraciones medias determinadas en leche materna menor a las detectadas por otros autores¹⁸⁰.

La citocina IL10 es producida por linfocitos del tipo Th2, es la citocina inmunosupresora por excelencia, inhibiendo la síntesis de muchas otras citocinas, entre las que podemos citar

IFN- γ e IL-12 (figura 50). Algunos estudios sugieren que la citocina IL-10 en leche humana puede tener efectos inmunomoduladores, antiinflamatorios en el tracto digestivo de los niños pequeños^{181,182}, estos autores han obtenido en sus determinaciones concentraciones mayores de esta citocina con un rango que oscila entre 66 a 9301 pg/ml, valores superiores a los observados en nuestro estudio.

Figura 50. Acción de la IL-10 sobre las células Th



Fuente: A Suárez, L Mozo, C Gutiérrez-Martín. Citocinas y Quimiocinas⁵⁸

Inicialmente la citocina IL-12 se describió como el factor estimulador de las células asesinas naturales (NK), pero la actual importancia de esta citocina deriva de su capacidad de dirigir la diferenciación de los linfocitos Th hacia células efectoras tipo Th1 de la hipersensibilidad retardada. La forma madura de esta molécula (p75) está compuesta de dos subunidades, p35 y p40. La síntesis de ambas subunidades está regulada diferencialmente, siendo ambas necesarias para la actividad funcional del heterodímero. Esta citocina incrementa la actividad citotóxica de las células NK. Incrementa la producción de IFN- γ por linfocitos T y células NK y activa linfocitos T citotóxicos.

Las concentraciones de citocinas observados en nuestro estudio, son similares a las obtenidas por Takahata y col.¹⁸³, mientras que el porcentaje de muestras con niveles detectables en nuestro estudio es menor. Sin embargo nuestros resultados discrepan de los presentados por Bryan y col.¹⁸⁴ donde se detectan concentraciones mayores de esta citocina en leche materna con un valor medio de 1408 pg/ml.

Las concentraciones de TNF- α detectadas en calostro coinciden aproximadamente con la detectada en el estudio de Takahata y col.¹⁸³, sin embargo estos autores pudieron detectar esta citocina en un porcentaje mayor de muestras (77%), que las detectadas en el presente

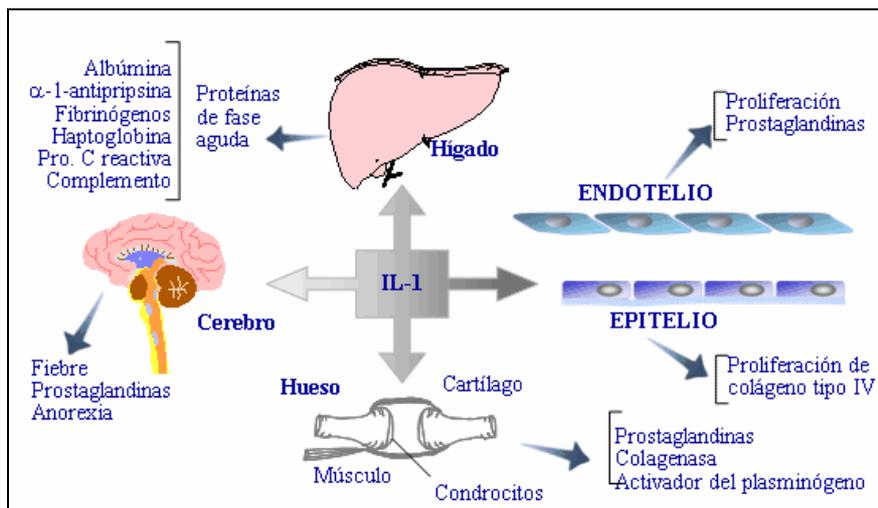
estudio (64%). El trabajo presentado por Hawkes y col.¹⁴⁸, muestra mayores rangos de detección que los encontrados en nuestro estudio. El rango de concentración de TNF- α detectado por este autor fue el siguiente: en calostro comprende desde nd (no detectable)-2933, en leche inicial oscila entre nd-570 y en leche madura nd-724. No obstante, el porcentaje de muestras positivas fue menor. Hawkes y col.¹⁴⁹ pudieron determinar un 37% de muestras positivas en calostro, 25% en leche inicial y 22% en leche madura. En nuestro estudio se determinaron 64% de muestras positivas en calostro, 40% en leche inicial y 30% en leche madura.

Borrueal y col.⁴⁸ estudiaron el efecto de las bacterias probióticas sobre la liberación de TNF- α por la mucosa intestinal, dado que el TNF- α desempeña una función clave en la patogenia de la inflamación intestinal de la enfermedad de *Crohn*. Encontraron que la liberación de TNF- α por la mucosa inflamada en la enfermedad de *Crohn* se redujo significativamente por el cocultivo con *L. casei* o *L. bulgaricus*, estos resultados coinciden con los hallados en nuestro estudio donde se observó una disminución significativa de la variación porcentual media de la concentración de TNF- α entre las visitas 1 y 3 en el grupo que consumió probióticos.

En relación a la citocina IL-6, en nuestro estudio no se han encontrado diferencias significativas entre grupos, en la variación porcentual de la concentración de IL-6. Wallace y col.¹⁸⁵ analizaron 28 muestras de leche materna, de las cuales en 24 pudieron detectar IL-6 con niveles de concentración comprendidos entre 0,81pg/ml y 306pg/ml. No obstante, en el presente estudio se observaron concentraciones mayores de esta citocina que los valores hallados por otros autores^{185,186}, sin embargo las concentraciones determinadas en leche inicial y leche madura son menores que las encontradas por Hawkes y col.¹⁴⁹

La IL-1 β tiene efectos proinflamatorios que se deben en parte, a que induce la liberación de histamina en los mastocitos, generando vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular en el lugar de la inflamación. Es el principal pirógeno endógeno, induciendo fiebre a través de la producción de prostaglandinas. También promueve la síntesis de proteínas de fase aguda por los hepatocitos y actúa sobre el SNC induciendo sueño y anorexia, típicamente asociada con los procesos infecciosos (figura 51).

Figura 51. Acciones biológicas de la IL-1 sobre diferentes órganos del cuerpo humano



Fuente: A Suárez, L Mozo, C Gutiérrez-Martín. Citocinas y Quimiocinas⁵⁸.

En el presente estudio no se observaron diferencias significativas entre grupos, en relación a la variación porcentual de la concentración de IL1- β . Sin embargo hemos detectado esta citocina en una proporción mayor de muestras en contraste con los datos descritos por Hawkes y col.¹⁴⁹, siendo la media de concentración de esta citocina mayor en nuestro estudio que los observados en la literatura^{149,186}.

Los datos obtenidos en leche materna se encuentran por encima o por debajo a los reflejados en la bibliografía según la citocina estudiada. La determinación de las citocinas en nuestro estudio se llevó a cabo aplicando la técnica *Cytometric Bead Array* (CBA), usando el *kit Human Inflammation CBA* (Becton Dickinson Biociencias, San Diego, CA, USA). Esta es una técnica innovadora en lo que respecta al análisis de leche materna. Fue muy complicado trabajar con las muestras de calostro, dado que es una sustancia muy densa con un alto porcentaje de materia grasa, la cual fue necesaria eliminar para realizar las determinaciones. Con los resultados obtenidos en este estudio, no podemos afirmar una firme asociación entre el consumo de probióticos durante el puerperio y la mejora global de los parámetros inmunológicos en leche materna. Sin embargo, se describe una tendencia positiva en algunos parámetros como IL10 y TNF- α .

En relación a los efectos beneficiosos de los probióticos en los niños, existe evidencia científica que demuestra que su uso en niños produce beneficio en la remisión de síntomas de diarrea^{119,187}, alergias alimentarias^{121,188} y dermatitis^{117,153}, como así también el consumo durante

el embarazo^{118,120}. Con los datos obtenidos en nuestro estudio podemos observar que en la revisión de los niños a los 6 meses, encontramos un porcentaje menor (no significativo) de dermatitis atópica en el grupo intervención de forma coincidente a la observado por otros autores¹¹⁸ y también se describe un número significativamente menor de niños con trastornos gastrointestinales en este mismo grupo. Además, durante el período de 2 a 6 meses se observó un porcentaje significativamente menor de niños que utilizaron medicamentos, en el grupo cuyas madres consumieron leche fermentada con *Lactobacillus casei*.

Este estudio, es el primero en presentar resultados referente a los efectos de *Lactobacillus casei* sobre la modulación de la respuesta inmune durante el puerperio, aportando la máxima evidencia científica *per se* de un diseño aleatorizado y doble ciego. Los resultados del este estudio representan el primer paso que permite evaluar el rol del *Lactobacillus casei* en esta población de especiales características como es la mujer lactante y su hijo. Este estudio permite identificar aquellos marcadores inmunológicos más apropiados para evaluar el rol de los probióticos sobre la respuesta inmune durante la lactancia. Futuras investigaciones que involucren un mayor número de participantes seguidos durante un período de tiempo más amplio, permitirán confirmar definitivamente los resultados mostrados en esta investigación.

5.3. ESTADO NUTRICIONAL DURANTE EL EMBARAZO

El estado nutricional de la madre es uno de los factores ambientales más relacionados con la evolución del embarazo y la salud del recién nacido. Durante esta etapa los aportes nutricionales de la gestante deben cubrir, además de sus propias necesidades, las correspondientes al feto en desarrollo y las derivadas de la síntesis de nuevos tejidos. El feto depende enteramente para su subsistencia del aporte de oxígeno y de los nutrientes transferidos desde la sangre a través de la placenta^{189,190}. Otros factores no nutricionales (actividad física, aislamiento social, tabaco, etc.) que inciden sobre la madre también influyen sobre el crecimiento del feto¹⁹¹.

A lo largo del embarazo, la mujer gestante incrementa sus necesidades energéticas, de proteínas y de la mayor parte de minerales y vitaminas. Durante este periodo deben ser cubiertas las necesidades del feto por su crecimiento con formación de nuevos tejidos, así como para mantener sus propias funciones fisiológicas¹⁹². Esto implicaría un cambio de las

características de su dieta para compensar los mayores requerimientos con un aumento de la dieta habitual, siempre que ésta esté adecuadamente equilibrada o recibir suplementación de algunos nutrientes¹⁹³.

Una ingesta nutricional adecuada durante el embarazo permite no sólo potenciar la salud de la mujer y prevenir enfermedades gestacionales, sino que también se relaciona con la salud del niño, principalmente con el peso del recién nacido, con la probabilidad de partos prematuros, con la aparición de algunas malformaciones congénitas e inclusive con la aparición de enfermedades crónicas en la vida adulta^{192,194,195}. No obstante, la mayoría de los controles que se realiza actualmente a las embarazadas están orientados a conocer la evolución del peso durante el embarazo y generalmente no se le da mayor importancia a la composición de la dieta¹⁹⁴. Por ello, un índice que proporcione un resumen de la calidad de la dieta en las embarazadas, sería una herramienta de útil aplicación durante el control del embarazo para conocer la composición de la ingesta dietética.

La valoración nutricional de la dieta en las gestantes de este estudio mostró un patrón de consumo de alimentos con una ingesta importante de lácteos como fuente de energía y nutrientes, incluidas las grasas saturadas, el calcio, el sodio y la riboflavina. Se advirtió también un importante consumo de frutas, verduras y hortalizas, que constituyen una fuente importante de vitamina C, fibras y folatos.

Estos resultados, como los de otros autores^{194,196}, muestran una dieta habitual en embarazadas suficiente en calorías. Por otra parte se observa que la dieta de las embarazadas presenta un elevado contenido en grasas (42,4%) alejado del 30-35% recomendado, con un predominio de ácidos grasos saturados (14,7%; recomendado <10%) y también con una ingesta media diaria de colesterol (441,1 mg) superior a las recomendaciones (<300 mg/día)¹⁹⁷, lo que refleja un mayor consumo de carnes, lácteos con elevado contenido graso y embutidos. También se detecta que el contenido de carbohidratos es inferior al recomendado (44,9% frente al 55% recomendado), lo que atribuimos a un consumo bajo de cereales y legumbres. Estos datos son semejantes a los obtenidos por Irlés y col.¹⁹⁶ en una población de embarazadas de Andalucía.

En cuanto al contenido de micronutrientes, se observa que un importante porcentaje de gestantes no alcanzaron el 50% de la ingesta recomendada¹⁴⁶ de hierro, folatos y vitamina D

(36,9%, 26,2% y 38,8% respectivamente). Estas deficiencias también fueron descritas por otros autores^{198,199} y además fueron puestas de manifiesto en la Encuesta Nutricional de Canarias en la cual una de sus conclusiones afirma que son muy relevantes las ingestas inadecuadas de vitamina A, D, E, folatos, hierro y magnesio en la población Canaria¹⁴⁴. Es necesario mencionar que la ENCA se realizó en población general, por lo que estas deficiencias adquieren mayor relevancia cuando las analizamos durante el período de gestación.

El *Healthy Eating Index* (HEI) fue desarrollado por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) y aporta un resumen de la calidad de la dieta basado en diferentes aspectos de una dieta saludable¹⁴⁷. Así, el USDA HEI fue diseñado para medir la calidad de la dieta evaluando su adherencia a las recomendaciones nacionales¹⁴⁷. El HEI también se ha utilizado para evaluar la asociación en la calidad de la dieta con los factores de riesgo en enfermedades crónicas, dado que si se cumple el número mínimo de raciones diarias recomendadas para cada grupo de alimentos, la mayoría de la población tendría todos los nutrientes necesarios para mantener la salud y prevenir las enfermedades crónicas relacionadas con la dieta²⁰⁰. Sin embargo, en el caso de las embarazadas evaluar la calidad de la dieta utilizando el HEI tendría como propósito prevenir el bajo peso al nacer, los defectos de nacimiento y favorecer una nutrición materna saludable evitando un aumento excesivo de peso^{200,201}.

El HEI en nuestra población de estudio alcanzó un puntaje de 54,9. Esta puntuación se aleja de la puntuación óptima de ≥ 80 requerida para calificar como buena la calidad de la dieta. Ninguna de las mujeres del estudio mostró un índice >80 , mientras que el 65% de las gestantes presentaron un índice que osciló entre 50-80, por lo que se considera que consumieron una dieta que necesitaba ser mejorada y el 35% restante tenían una dieta considerada pobre (HEI <50). Los datos obtenidos en el presente estudio revelaron una calidad de dieta menor a los datos observados por Pick y col.²⁰⁰ en una población de embarazadas americanas (HEI medio= 75,0; D.E.= 0,99). En este estudio, el 21% de las embarazadas presentaron una calidad de dieta buena y el 79% de las embarazadas tenían una dieta que debía ser mejorada, pero, sin embargo, no se detectaron embarazadas con dietas pobres. Comparando la puntuación obtenida en cada ítem del índice, nuestros datos fueron semejantes a los obtenidos por Pick y col.²⁰⁰ para vegetales, frutas, carnes y variedad. Sin embargo, se obtuvo una puntuación superior para el caso de lácteos y menor para el resto de los ítems (cereales, grasa total, grasa saturada, colesterol y sodio).

Para evaluar la dieta habitual en las embarazadas de este estudio, utilizamos un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos. Si bien este instrumento aporta una información nutricional que tiende a sobrestimar los consumos medios²⁰², en investigaciones previas se ha demostrado que el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos es un instrumento adecuado para obtener estimaciones fiables de la ingesta de energía y nutrientes durante el embarazo^{203,204}.

Según nuestro conocimiento este es el primer estudio que se realiza en población española donde se evalúa la calidad de la dieta de la mujer gestante utilizando el *Healthy Eating Index*. El HEI representa una herramienta útil para evaluar la calidad de la dieta, analizando la adherencia de la misma a las recomendaciones de las guías alimentarias nacionales. Sin embargo, no permite discriminar el riesgo de déficit en micronutrientes, sobre todo, en aquellos que son de especial interés en la dieta de las gestantes.

El yodo representa uno de los micronutrientes de especial interés en la dieta de la embarazada, dado que la deficiencia del mismo constituye uno de los principales problemas mundiales de salud de origen nutricional^{111,205}. Es bien sabido que una deficiencia leve o moderada de este micronutriente representa un riesgo leve para la salud de la población adulta, algo mayor en la edad infantil y puede significar un riesgo importante para las mujeres embarazadas por sus mayores necesidades de yodo y por el importante riesgo potencial para el feto que este déficit puede representar. Como consecuencia, la Organización Mundial de la Salud estableció que en la mujer durante la gestación y la lactancia la ingesta de yodo debería superar los 200 μg diarios²⁰⁵. Una limitación de este estudio fue que no pudimos analizar la ingesta de yodo proveniente de la dieta, debido a que la tabla de composición de alimentos utilizada no aporta información sobre este micronutriente.

En general, los resultados muestran la necesidad de consejo dietético en las mujeres gestantes de nuestro medio para mejorar la calidad de la dieta y la suplementación farmacológica para suplir principalmente la carencia dietética de hierro y folatos. Es importante destacar que la mujer durante la gestación se encuentra más receptiva a adoptar estilos de vida más saludable¹⁹⁴. Por ello, el consejo dietético en esta población podría ser una buena estrategia a corto y largo plazo para favorecer la adopción de hábitos alimentarios saludables en el entorno familiar.

5.4. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Una posible limitación del presente estudio podría ser la relativa ausencia de análisis funcionales en células T, células NK y células B. La variable principal de este estudio, el perfil Th1/Th2, fue evaluado por medio de un estudio funcional como es la detección de células T secretoras de IFN- γ y de células T secretoras de IL-4 posterior a un proceso de activación y marcaje con anticuerpos monoclonales. Sin embargo, no se llevaron a cabo análisis funcionales en células B y en células NK células se llevaron a cabo. No obstante, los datos mostrados en la literatura podrían minimizar estas limitaciones: los cambios en la producción de inmunoglobulinas representan una medición indirecta de la actividad funcional de las células B función, y además existe una correlación positiva en el número de células NK y la actividad funcional de estas células en individuos inmunocompetentes^{206,207}.

Otra posible limitación de este estudio son las pérdidas en el seguimiento. Aunque fue elevada la motivación de las embarazadas y las lactantes, hubo pérdidas de participantes durante el desarrollo del estudio. No obstante, el número de mujeres consideradas como pérdidas no fue significativo. Fueron 6 las participantes del grupo control que se perdieron durante el seguimiento: dos debido a falta de adherencia al consumo de los productos del estudio. En el grupo intervención fueron 5 las pérdidas de las cuales 3 fueron debidas a que no ingirieron adecuadamente los productos del estudio.

En relación a la aleatorización tal como fue indicado en la sección de metodología, la lista de aleatorización fue generada por ordenador por una empresa independiente, *Biomedical Systems Group* S.A. (Barcelona). La lista elaborada por esta empresa incluía 500 participantes, lo cual ocasionó que los grupos tuvieran tamaños desiguales, dado que trabajamos con 104 mujeres.

La ausencia de evaluación de parámetros biológicos en el niño, podría considerarse una limitación de este trabajo. Sin embargo, es necesario destacar que el objetivo principal de este estudio fue evaluar los efectos de *Lactobacillus casei* durante el puerperio sobre la modulación de la respuesta inmune de la madre. Por lo que, los resultados hallados tanto en leche materna como en el niño constituyen hallazgos secundarios, los cuales permitirán desarrollar futuras investigaciones donde los niños constituyan la población principal de estudio.

Otro aspecto a considerar es el tamaño de la muestra. Al respecto cabe mencionar que los resultados del este estudio representan el primer paso que permite evaluar el papel del *Lactobacillus casei* en esta población de especiales características como es la mujer lactante. Por lo cual, futuras investigaciones que involucren un mayor número de participantes seguidos durante un período de tiempo más amplio, permitirán confirmar definitivamente los resultados mostrados en esta investigación.

En relación a la evaluación del estado nutricional durante el embarazo, una limitación de este estudio fue que no se pudo analizar la ingesta de yodo proveniente de la dieta, debido a que la tabla de composición de alimentos utilizada no aporta información sobre este micronutriente.

Para la presente tesis se ha utilizado la información proveniente del cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos para evaluar la dieta habitual de las embarazadas de este estudio. Si bien este instrumento aporta una información nutricional que tiende a sobrestimar los consumos medios²⁰², en investigaciones previas se ha demostrado que el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos es un instrumento adecuado para obtener estimaciones fiables de la ingesta de energía y nutrientes durante el embarazo^{203,204}.

En cuanto a la evaluación de la calidad de la dieta, otra de las posibles limitaciones del presente estudio fue que se analizó de una muestra no representativa lo cual no hace posible extrapolar los resultados a las mujeres gestantes de Canarias. Sin embargo, debe señalarse que las mujeres que participaron en la evaluación fueron mujeres voluntarias y seguramente tenían un grado de motivación y de conciencia sobre la salud mayor del que cabría esperar en población general. De esta manera, es posible que los resultados que se obtendrían con respecto a la adhesión a una dieta saludable serían incluso peores si consideráramos la población general de mujeres canarias gestantes. Pese a todo, son necesarias futuras investigaciones involucrando un mayor número de embarazadas, teniendo en cuenta además a los grupos vulnerables de la población como son las adolescentes embarazadas y las mujeres inmigrantes.

6. Conclusiones

PRIMERA

Este estudio es el primero en presentar resultados referente a los efectos de *Lactobacillus casei* sobre la modulación de la respuesta inmune durante el puerperio, aportando la máxima evidencia científica *per se* de un diseño aleatorizado y doble ciego. Los resultados de este estudio representan el primer paso que permite evaluar el papel del *Lactobacillus casei* en esta población de especiales características como es la mujer lactante y su hijo. Este estudio permite identificar aquellos marcadores inmunológicos más apropiados para evaluar el papel de los probióticos sobre la respuesta inmune durante la lactancia. Futuras investigaciones que involucren un mayor número de participantes seguidos durante un período de tiempo más amplio, permitirán confirmar definitivamente los resultados mostrados en esta investigación.

SEGUNDA

Los complejos cambios que acontecen en la inmunidad de la madre durante el embarazo y el puerperio destinados a la protección del recién nacido, hacen que el efecto del consumo de leche fermentada con *Lactobacillus casei* en la madre sea menor al observado en otras circunstancias.

TERCERA

No se observaron diferencias significativas en los perfiles Th1/Th2 y Tc1/Tc2 entre grupos durante el período de estudio.

CUARTA

El consumo de leche fermentada con *Lactobacillus casei* durante el puerperio puede contribuir a modular el número de células NK.

QUINTA

El consumo de leche fermentada con *Lactobacillus casei* durante el puerperio muestra una tendencia no significativa a potenciar la respuesta inmune, aumentando el número de células CD3⁺, CD19⁺, CD8⁺ y CD3⁺CD56⁺.

SEXTA

Con los resultados obtenidos en este estudio no podemos establecer una firme asociación entre el consumo de probióticos durante el puerperio y la mejora de los parámetros

inmunológicos en leche materna. Sin embargo, se observa una tendencia positiva y significativa en algunos parámetros como en las citocinas IL10 y TNF- α .

SÉPTIMA

En la revisión de los niños a los 6 meses se observó un porcentaje significativamente menor de niños con trastornos gastrointestinales y un menor consumo de medicamentos, en el grupo cuyas madres consumieron leche fermentada con *Lactobacillus casei*. En este mismo grupo, también se constató un porcentaje menor, aunque no significativo, de dermatitis atópica.

OCTAVA

La valoración nutricional de la dieta en las gestantes de este estudio mostró un patrón de consumo de alimentos con una ingesta importante de lácteos, frutas, verduras y hortalizas.

NOVENA

En relación al contenido de micronutrientes en la dieta, se observó que un importante porcentaje de gestantes no alcanzaron el 50% de la ingesta recomendada de hierro, folatos y vitamina D (37%, 26% y 39% respectivamente).

DÉCIMA

El índice utilizado para evaluar la calidad de la dieta de las gestantes estudiadas alcanzó un puntaje de 55. Esta puntuación se aleja de la puntuación óptima de ≥ 80 requerida para calificar como buena la calidad de la dieta.

UNDÉCIMA

Los resultados muestran la necesidad del consejo dietético en las mujeres gestantes de nuestro medio para mejorar la calidad de la dieta y la suplementación farmacológica para suplir principalmente la carencia dietética de hierro y folatos. Es importante destacar que la mujer durante la gestación se encuentra más receptiva a adoptar estilos de vida más saludable. Por ello, el consejo dietético en esta población podría ser una buena estrategia a corto y largo plazo para favorecer la adopción de hábitos alimentarios saludables en el entorno familiar.

7. Resumen / Abstract

RESUMEN

Antecedentes y objetivos: Las bacterias ácido-lácticas y los productos obtenidos a partir de su fermentación ejercen un efecto inmunomodulador en la mucosa intestinal y a nivel sistémico. El objetivo de este estudio fue determinar si el *Lactobacillus casei* administrado durante 6 semanas en mujeres tras el parto y durante el período de lactancia es capaz de modular el sistema inmune.

Sujetos y Método: Estudio de intervención nutricional con grupos paralelos, doble ciego, aleatorizado y controlado con un tamaño muestral de 104 mujeres. Las participantes del estudio fueron aleatorizadas a recibir leche fermentada con *Lactobacillus casei* (n=59) o placebo (n=45). La variable principal fue el perfil Th1/Th2 mediante la determinación de los valores de IFN- γ (Th1) e IL4 (Th2) en sangre materna por técnica citométrica. En leche materna se evaluaron por Citometría CBA y ELISA las modificaciones de citocinas en tres momentos de la lactancia: calostro, leche de transición (10días) y leche madura (45 días). Se realizó también un seguimiento de la antropometría y de los episodios infecciosos y alérgicos en el lactante hasta los 6 meses de vida. Además, se aplicó un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos semicuantitativo de 84 ítems alimentarios, y se valoró la calidad de la dieta durante el embarazo utilizando el *Healthy Eating Index*. La asociación entre grupos de las características de las mujeres y su perfil inmunológico se analizó con el test U Mann-Whitney. Los datos se analizaron con SPSS 12.0.

Resultados: La media de edad fue 29,4 (DE: 4,5) y 30.2 (DE: 4,2) en el grupo intervención y en el grupo placebo, respectivamente. Tras el consumo de leche fermentada con *Lactobacillus casei* durante el puerperio, se observó un aumento significativo de células NK ($p=0,026$) y un aumento no significativo de linfocitos T y B. En leche materna se detecta una disminución de la citocina proinflamatoria TNF- α , observándose un menor número de afecciones gastrointestinales del lactante ($p=0,020$), comparados con el grupo placebo. Respecto a la calidad de la dieta el puntaje del índice fue de 54,9, el cual se aleja de la puntuación óptima de ≥ 80 requerida para calificar como buena la calidad de la dieta de las embarazadas de esta población.

Conclusiones: La ingesta de leche fermentada con *Lactobacillus casei* durante la lactancia contribuye modestamente a modular la respuesta inmunológica de la madre después del parto y se observa una menor incidencia de episodios gastrointestinales en los lactantes. Además, es necesario el consejo dietético para mejorar la calidad de la dieta durante la gestación.

Palabras claves: prebióticos; puerperio; ensayos clínicos; *Lactobacillus casei* DN114001; leche materna; citocinas; respuesta inmune; calidad de la dieta; *Healthy Eating Index*.

ABSTRACT

Background and objective:

The healthy action of probiotics is not only due to their nutritional properties and their influence on the gastrointestinal environment, but also to their action on the immune system. The aim of the present study was to determine if 6 weeks of probiotic intake would be able to modulate the immune system in women who had recently delivered and were breast-feeding.

Subjects and method:

The design consisted of a randomised, controlled and double-blind nutritional intervention study with parallel groups with a sample size of 104 women. The main variable is the T helper type 1/T helper type 2 (Th1/Th2) profile determined by measuring interferon- γ (Th1) and IL-4 (Th2) values in peripheral blood by flow cytometry. The modifications of cytokines were evaluated in maternal milk by cytometric bead array in a flow cytometer and ELISA at three stages of breast-feeding: colostrum, early milk (10 d) and mature milk (45 d). Additionally, the anthropometry and infectious and allergic episodes in the newborn were followed up throughout the first 6 months of life. Moreover, the quality of the diet of pregnant women was valued using the *Healthy Eating Index*, from a semi-quantitative food frequency questionnaire of 84 food items. The association between different women's characteristics and the immune profile was assessed through non-parametric Mann-Whitney U test. Data were analysed with SPSS 12.0.

Results:

Age mean of healthy postpartal women was 29.4 (SD: 4.4) and 30.2 (SD: 4.2), for *L.casei* and control groups, respectively. After the consumption of milk fermented with *Lactobacillus casei* during the puerperium, we observed a non-significant increase in T and B lymphocytes and a significant increase in NK cells (0.026). A decrease in the pro-inflammatory cytokine TNF- α in maternal milk and fewer gastrointestinal disturbances ($p=0.020$) were also observed in the breast-fed child of the mothers who consumed *L. casei*. Regarding the quality of the diet the score of the index was 54,9. This result remains below the optimum score of ≥ 80 , which is considered good the diet quality of pregnant women in this study population.

Conclusions:

The intake of milk fermented with *L. casei* during the lactation period modestly contributes to the modulation of the mother's immunological response after delivery and decreases the incidence of gastrointestinal episodes in the breast-fed child. In addition, dietary advice for improving the diet quality during pregnancy is necessary.

Key words: probiotics; postpartum period; clinical trials; *lactobacillus casei* DN114001; human milk; cytokines; immune response, diet quality, *Healthy Eating Index*.

8. Referencias

1. Mariné, A. Alimentos funcionales. *Nutrición y Obesidad* 1998; 1: 161-162.
2. Alimentos funcionales para una alimentación saludable. SENC 2005. Disponible en URL [<http://www.nutricioncomunitaria.com>] [Acceso 26 de febrero de 2006].
3. Roberfroid MB. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1660-1664.
4. Roberfroid MB. An European consensus of scientific concepts of functional foods. *Nutrition* 2000; 16: 689-691.
5. Calder PC, Kew S. The immune system: a target for functional foods? *Br J Nutr* 2002; 88(Suppl 2): 165-177.
6. Arvanitoyannis IS, Van Houwelingen-Koukaliaroglou M. Functional foods: a survey of health claims, pros and cons, and current legislation. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2005; 45: 385-404.
7. Scientific concepts of functional foods in Europe. Consensus document. *Br J Nutr* 1999; 81: 1-27.
8. Roberfroid MB. Global view on functional foods: European perspectives. *Br J Nutr* 2002; 88: 133-138.
9. Richardson DP, Affertsholt T, Asp NG, Bruce A, Grossklaus R, Howlett J, Pannemans D, Ross R, Verhagen H, Viechtbauer V. PASSCLAIM - Synthesis and review of existing processes. *Eur J Nutr* 2003; 42(Suppl. 1): 96-111.
10. Joyanes M, Marcos A. Probióticos: características nutricionales y factores implicados. *Rev Esp Nutr Comunitaria* 2001; 7: 28-33.
11. Caramia G. Probiotics: from Metchnikoff to the current preventive and therapeutic possibilities. *Pediatr Med Chir* 2004; 26: 19-33.

12. Perdigon G, Fuller R, Raya R. Lactic acid bacteria and their effect on the immune system. *Curr Issues Intest Microbiol* 2001; 2: 27-42.
13. Isolauri E, Sutas Y, Kankaanpaa P, Arvilommi H, Salminen S. Probiotics: effects on immunity. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(Suppl. 2): 444-450.
14. O'Sullivan GC, Kelly P, O'Halloran S, Collins C, Collins JK, Dunne C, Shanahan F. Probiotics: an emerging therapy. *Curr Pharm Des* 2005; 11: 3-10.
15. Salminen SJ, Gueimonde M, Isolauri E. Probiotics that modify disease risk. *J Nutr* 2005; 135: 1294-1298.
16. Erickson KL, Hubbard NE. Probiotic immunomodulation in health and disease. *J Nutr* 2000; 130(Suppl. 2): 403-409.
17. Corthésy B, Gaskins HR, Mercenier A. Cross-talk between probiotic bacteria and the host immune system. *J Nutr* 2007; 137(Suppl 2): 781-790.
18. Lopez-Varela S, Gonzalez-Gross M, Marcos A. Functional foods and the immune system: a review. *Eur J Clin Nutr* 2005; 56(Suppl. 3); 29-33.
19. Schiffrin EJ, Rochat F, Link-Amster H, Aeschlimann JM, Donnet-Hughes A. Immunomodulation of human blood cells following the ingestion of lactic acid bacteria. *J Dairy Sci* 1995; 78: 491-497.
20. Dugas B, Mercenier A, Lenoir-Wijnkoop I, Arnaud C, Dugas N, Postaire E. Immunity and probiotics. *Immunol Today* 1999; 20: 387-390.
21. De Simone C, Ciardi A, Grassi A, Lambert Gardini S, Tzantzoglou S, Trinchieri V, Moretti S, Jirillo E. Effect of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* on gut mucosa and peripheral blood B lymphocytes. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1992; 14: 331-340.
22. Yasui H, Ohwaki M. Enhancement of immune response in Peyer's patch cells cultured with *Bifidobacterium breve*. *J Dairy Sci* 1991; 74: 1187-1195.

23. Yasui H, Kiyoshima J, Hori T, Shida K. Protection against influenza virus infection of mice fed *Bifidobacterium breve* YIT4064. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999; 6: 186-192.
24. Majamaa H, Isolauri E, Saxelin M, Vesikari T. Lactic acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 20: 333-338.
25. Kaila M, Isolauri E, Saxelin M, Arvilommi H, Vesikari T. Viable versus inactivated lactobacillus strain GG in acute rotavirus diarrhoea. *Arch Dis Child* 1995; 72: 51-53.
26. Isolauri E, Joensuu J, Suomalainen H, Luomala M, Vesikari T. Improved immunogenicity of oral D x RRV reassortant rotavirus vaccine by *Lactobacillus casei* GG. *Vaccine* 1995; 13: 310-312.
27. Link-Amster H, Rochat F, Saudan KY, Mignot O, Aeschlimann JM. Modulation of a specific humoral immune response and changes in intestinal flora mediated through fermented milk intake. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1994; 10: 55-63.
28. Marin ML, Tejada-Simon MV, Lee JH, Murtha J, Ustunol Z, Pestka JJ. Stimulation of cytokine production in clonal macrophage and T-cell models by *Streptococcus thermophilus*: comparison with *Bifidobacterium* sp. and *Lactobacillus bulgaricus*. *J Food Prot* 1998; 61: 859-864.
29. Zalashko MV, Anisimova HI, Bortkevich LG. Antimicrobial and immunomodulatory activities of *Lactobacillus acidophilus* Ke-10. *Prikl Biokhim Mikrobiol* 1997; 33: 305-309.
30. Solis Pereyra B, Lemonnier D. Induction of 2'-5' A synthetase activity and interferon in humans by bacteria used in dairy products. *Eur Cytokine Netw* 1991; 2: 137-140.
31. Rangavajhyala N, Shahani KM, Scridevi G, Srikumaran S. Nonlipopolysaccharide component(s) of *Lactobacillus acidophilus* stimulate(s) the production of interleukin-1 alpha and tumor necrosis factor-alpha by murine macrophages. *Nutr Cancer* 1997; 28: 130-134.
32. Laffineur E, Genetet N, Leonil J. Immunomodulatory activity of beta-casein permeate medium fermented by lactic acid bacteria. *J Dairy Sci* 1996; 79: 2113-2120.

33. Kishi A, Uno K, Matsubara Y, Okuda C, Kishida T. Effect of the oral administration of *Lactobacillus brevis* subsp. *Coagulans* on interferon-alpha producing capacity in humans. *J Am Coll Nutr* 1996; 15: 408-412.
34. Arunachalam K, Gill HS, Chandra RK. Enhancement of natural immune function by dietary consumption of *Bifidobacterium lactis* (HN019). *Eur J Clin Nutr* 2000; 54: 263-267.
35. Jacobsen CN, Rosenfeldt Nielsen V, Hayford AE, Moller PL, Michaelsen KF, Paerregaard A, Sandstrom B, Tvede M, Jakobsen M. Screening of probiotic activities of forty-seven strains of *Lactobacillus* spp. by in vitro techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in humans. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65: 4949-4956.
36. Deshpande G, Rao S, Patole S. Probiotics for prevention of necrotising enterocolitis in preterm neonates with very low birthweight: a systematic review of randomised controlled trials. *Lancet* 2007; 369: 1614-1620.
37. Vesa TH, Marteau P, Zidi S, Briet F, Pochart P, Rambaud JC. Digestion and tolerance of lactose from yogurt and different semi-solid fermented dairy products containing *Lactobacillus acidophilus* and bifidobacteria in lactose maldigesters- is bacterial lactase important? *Eur J Clin Nutr* 1996; 50: 730-733.
38. Bjorksten B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. *Clin Exp. Allergy* 1999; 29: 342-346.
39. Ouwehand AC. Antiallergic effects of probiotics. *J Nutr* 2007; 137(Suppl 2): 794-797.
40. Perdigón G, Valdez JC, Rachid M. Antitumor activity of yogurt; study of posibles immune mechanisms". *J Dairy Res* 1998; 65: 129-138.
41. Singh J, Rivenson A, Tomita M, Shimamura S, Ishibashi N, Reddy BS. *Bifidobacterium longum*, a lactic acid-producing intestinal bacterium, inhibits colon cancer and modulates the intermediate biomarkers of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 1997; 18: 833-841.

42. Shornikova AV, Casas IA, Mykkänen H, Salo E, Vesikari T. Bacteriotherapy with *Lactobacillus reuteri* in rotavirus gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis J* 1997; 16: 1103-1107.
43. Gill HS, Rutherfurd KJ, Prasad J, Gopal PK. Enhancement of natural and acquired immunity by *Lactobacillus rhamnosus* (HN001), *Lactobacillus acidophilus* (HN017) and *Bifidobacterium lactis* (HN019). *Br J Nutr* 2000; 83: 167-176.
44. Hallén A, Jarstrand C, Pahlson C. Treatment of bacterial vaginosis with lactobacilli. *Sex Transm Dis* 1992; 19: 146-148.
45. Pedone CA, Arnaud CC, Postaire ER, Bouley FB, Reinert P. Multicentre study on 928 children attending day care centres to evaluate the effect of milk fermented by *Lactobacillus casei* DN-114 001 on the incidence of diarrhoea. *Int. J. Clin. Pract* 2000; 54: 568-571.
46. Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskimäki P, Isolauri E. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2000; 357: 1076-1079.
47. Saltzman JR, Russell RM, Golner B, Barakat S, Dallal GE, Goldin BR. A randomized trial of *Lactobacillus acidophilus* BG2FO4 to treat lactose intolerance. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 140-146.
48. Borruel N, Carol M, Casellas F, Antolín M, de Lara F, Espín E, Naval J, Guarner F, Malagelada JR. Increased mucosal tumour necrosis factor alpha production in Crohn's disease can be downregulated ex vivo by probiotic bacteria. *Gut* 2002; 51: 659-664.
49. Gill HS, Rutherfurd KJ, Cross ML. Dietary probiotic supplementation enhances natural killer cell activity in the elderly: an investigation of age-related immunological changes. *J Clin Immunol* 2001; 21: 264-271.
50. Takeda K, Okumura K. Effects of a fermented milk drink containing *Lactobacillus casei* strain Shirota on the human NK-cell activity. *J Nutr* 2007; 137(Suppl 2): 791-793.

51. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. General properties of immune responses. En Abbas Ak, Lichtman AH, Pober JS (4^a ed). Cellular and Molecular Immunology Philadelphia WB Saunders Co. 2000; p.3-16.
52. Pérez Arellano JL, Francés A, Cabrera J, Espinoza E, Sánchez MM. Introducción a los sistemas de defensa. En: Arévalo R, Muro A, Alonso J. Sistemas de integración y defensa de los seres vivos. Universidad de Salamanca 2000 (1^a ed): p.143-168.
53. Pérez Arellano JL, de Castro del Pozo S. Inflamación. En: Rodés J, Guardia J. Tratado de Medicina Interna. Barcelona. Masson 1997: p. 20-38.
54. Parkin J, Cohen B. An overview of the immune system. Lancet 2001; 357: 1777-1789
55. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. Part I. N Engl J Med 2000; 343: 37-49.
56. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. Part II. N Engl J Med 2000; 343: 108-117.
57. Calder PC. Immunological parameters: what do they mean? J Nutr 2007; 137(Suppl 2): 773-780.
58. Martínez J.P. Inmunologiaonline. Universidad de Córdoba 2003. ISBN 84-607-6953. Disponible en URL [<http://www.uco.es/grupos/inmunologia-molecular/inmunologia/>] [Acceso 5 de febrero de 2008].
59. Chaouat G, Zourbas S, Ostojic S, Lappree-Delage G, Dubanchet S, Ledee N, Martal J. A brief review of recent data on some cytokine expressions at the materno-foetal interface which might challenge the classical Th1/Th2 dichotomy. J Reprod Immunol 2002; 53: 241-256.
60. Raghupathy R. Pregnancy: success and failure within the Th1/Th2/Th3 paradigm. Semin Immunol 2001; 13: 219-227.

61. Croy BA. Where now for the Th1/Th2 paradigm of the gestational uterus?. *J Reprod Immunol* 2001; 51: 1-2.
62. Ashkar AA, Di Santo JP, Croy BA. Interferon- γ contributes to initiation of uterine vascular modification, decidual integrity, and uterine natural Killer cell Maturation during normal murine pregnancy. *J. Exp Med* 2000; 192: 259-269.
63. Aagaard-Tillery KM, Silver R, Dalton J. Immunology of normal pregnancy. *Semin Fetal Neonatal Med* 2006; 11; 279-295.
64. Makhseed M, Raghupathy R, Azizieh F, Omu A, Al-Shamali E, Ashkanani L. Th1 and Th2 cytokine profiles in recurrent aborters with successful pregnancy and with subsequent abortions. *Hum Reprod* 2001; 16, 2219-2226.
65. Kruse N, Greif M, Morabadi NF, Marx L, Toyka KV, Rieckmann. Variations in cytokine mRNA expression during normal human pregnancy. *Clin Exp Immunol* 2000; 119: 317-322.
66. Reinhard G, Noll A, Schlebusch H, Mallmann P, Ruecker AV. Shifts in the Th1/Th2 balance during human pregnancy correlate with apoptotic changes. *Biochem Biophys Res Comm* 1998; 245: 933-938.
67. Hill JA, Polgar K, Anderson DJ. T helper 1-type cellular immunity to trophoblast in women with recurrent spontaneous abortions. *JAMA* 1995; 273: 1933-1958.
68. Makhseed M, Raghupathy R, Azizieh F, Al-Azemi MMk, Hassan NA, Bandar A. Mitogen-induced cytokine responses of maternal peripheral blood lymphocytes indicate a differential Th-type bias in normal pregnancy and pregnancy failure. *Am J Reprod Immunol* 1999; 42: 273-228.
69. Raghupathy R, Makhseed M, Azizieh F, Omu A, Gupta M, Farhat R. Cytokine production by maternal lymphocytes during normal human pregnancy and in unexplained recurrent spontaneous abortion. *Hum Reprod* 2000; 15: 713–718.

70. Raghupathy R, Makhseed M, Azizieh F, Hassan N, Al-Azemi M, Al-Shamali E. Maternal Th1- and Th2-type reactivity to placental antigens in normal human pregnancy and unexplained recurrent spontaneous abortions. *Cell Immunol* 1999; 196:122–130.
71. Hanna N, Hanna I, Hleb M, Wagner E, Dougherty Balkundi D, Padbury J, Sharma S. Gestational age-dependent expression of IL-10 and its receptor in human placental tissues and isolated cytotrophoblasts. *J Immunol* 2001; 64: 5721–5728.
72. Piccinni M-P, Beloni L, Livi C, Maggi E, Scarselli G, Romagnani S. Defective production of both leukemia inhibitory factor and type 2 T-helper cytokines by decidual T cells in unexplained recurrent abortions. *Nature Med* 1998; 4: 1020–1024.
73. Lim KJ, Odukoya OA, Ajjan RA, Li TC, Weetman AP, Cooke ID. Profile of cytokine mRNA expression in peri-implantation human endometrium. *Mol Hum Reprod* 1998; 4: 77–81.
74. Ho HN, Chao KH, Chen HF, Chen SU, Wu MY, Yang YS. Distribution of Th1 and Th2 cell populations in human peripheral and decidual T cells from normal and anembryonic pregnancies. *Fertil Steril* 2001; 76: 797-803.
75. Chaouat G, Menu E, Clark DA, Dy M, Minkowski M, Wegmann TG. Control of fetal survival in CBA x DBA/2 mice by lymphokine therapy. *J Reprod Fertil* 1990. 89: 447–457.
76. Chaouat G, Meliani AA, Martal J, Raghupathy R, Elliot J, Mosmann TR, Wegmann TG. IL-10 prevents naturally occurring fetal loss in the CBA x DBA/2 mating combination, and local defect in IL-10 production in this abortion-prone combination is corrected by in vitro injection of IFN- γ . *J Immunol* 1995; 154: 4261–4270.
77. Rivera DL, Olister SM, Liu X, Thompson JH, Pennline K, Azuero R, Clark DA, Miller MJ. Interleukin-10 attenuates experimental fetal growth restriction and demise. *FASEB J* 1998; 12: 189–197.
78. Haimovici F, Hill JA, Anderson DJ. The effects of soluble products of activated lymphocytes and macrophages on blastocyst implantation events in vitro. *Biol Reprod* 1991; 44: 69–76.

79. Yui J, Garcia-Lloret M, Wegmann TG, Guilbert L. Cytotoxicity of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and gamma-interferon (IFN- γ) against primary human placental trophoblasts. *Placenta* 1994; 15: 819–828.
80. Clark DA, Chaouat G, Arck PC, Mittrucker HW, Levy GA. Cytokine-dependent abortion in CBAx DBA/2 mice is mediated by the procoagulant f12 prothrombinase. *J Immunol* 1998; 160: 545–549.
81. Miyaura H, Iwata M. Direct and indirect inhibition of Th1 development by progesterone and glucocorticoids. *J Immunol* 2002; 168: 1087-1094.
82. Piccinni M-P, Romagnani S. Regulation of fetal allograft survival by hormone-controlled Th1- and Th2-type cytokines. *Immunol Res* 1996 15: 141–150.
83. Wilder RL. Hormones, pregnancy, and autoimmune diseases. *Ann NY Acad Sci* 1998; 840: 45-50.
84. Zimmer JP, Garza C, Butte NF, Goldman AS. Maternal blood B-cell (CD19+) percentages and serum immunoglobulin concentrations correlate with breast-feeding behavior and serum prolactin concentration. *Am J Reprod Immunol* 1998; 40: 57-62.
85. Zimmer JP, Garza C, Heller ME, Butte NF, Goldman AS. Relationship between serum prolactin, lactation and changes in maternal blood B-cell (CD19+) percents during the first 8 months post-partum. *J Reprod Immunol* 1996; 30: 81-95.
86. Zimmer JP, Garza C, Heller ME, Butte NF, Goldman AS. Postpartum maternal blood helper T (CD3+CD4+) and cytotoxic T (CD3+CD8+) cells: correlations with iron status, parity, supplement use, and lactation status. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 897-904.
87. Duggleby SL, Jackson AA. Protein, amino acid and nitrogen metabolism during pregnancy: how might the mother meet the needs of her fetus?. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002; 5: 503-509.

88. Kontic-Vucinic O, Sulovic N, Radunovic N. Micronutrients in women's reproductive health: II. Minerals and trace elements. *Int J Fertil Womens Med* 2006; 51: 116-124.
89. Costello AM, Osrin D. Micronutrient status during pregnancy and outcomes for newborn infants in developing countries. *J Nutr* 2003; 133(Suppl 2): 1757-1764.
90. Kontic-Vucinic O, Sulovic N, Radunovic N. Micronutrients in women's reproductive health: I. Vitamins. *Int J Fertil Womens Med* 2006; 51: 106-115.
91. Kind KL, Moore VM, Davies MJ. Diet around conception and during pregnancy--effects on fetal and neonatal outcomes. *Reprod Biomed Online* 2006; 12: 532-541.
92. Picciano MF. Pregnancy and lactation: physiological adjustments, nutritional requirements and the role of dietary supplements. *J Nutr* 2003; 133: 1997-2002.
93. Chandra RK. Nutrition and the immune system: an introduction. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 460-463.
94. Wintergerst ES, Maggini S, Hornig DH. Contribution of selected vitamins and trace elements to immune function. *Ann Nutr Metab* 2007; 51: 301-323.
95. González-Gross M, Wärnberg J, Álvarez R, Medina S, Marcos A. Los alimentos funcionales y su relación con el sistema inmune. En: Marcos A. *Actualización en nutrición, inmunidad e infección*. Madrid: Panamericana; 2003. p. 57-65.
96. Maggini S, Wintergerst ES, Beveridge S, Hornig DH. Selected vitamins and trace elements support immune function by strengthening epithelial barriers and cellular and humoral immune responses. *Br J Nutr* 2007; 98(Suppl 1): 29-35.
97. Strobel M, Tinz J, Biesalski HK. The importance of beta-carotene as a source of vitamin A with special regard to pregnant and breastfeeding women. *Eur J Nutr* 2007; 46(Suppl 1): 1-20.

98. Ross AC. Vitamin A status: relationship to immunity and the antibody response. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1992;200:303-20.
99. Maggini S, Wintergerst ES, Beveridge S, Hornig DH. Selected vitamins and trace elements support immune function by strengthening epithelial barriers and cellular and humoral immune responses. *Br J Nutr* 2007; 98(Suppl 1): 29-35.
100. Ramakrishnan U, Webb A, Ologoudou K. Infection, immunity and vitamins. . In: Gershwin M, Nesterl P, Keen C editors. *Handbook of Nutrition and Immunity.* New Jersey: Human Press; 2004. p.93-115.
101. Grimble RF. Effect of antioxidative vitamins on immune function with clinical applications. *Int J Vitam Nutr Res* 1997; 67: 312-320.
102. Meydani SN, Beharka AA. Recent developments in vitamin E and immune response. *Nutr Rev* 1998; 56: S49-S58.
103. Hemila H. Vitamin C and common cold incidence: a review of studies with subjects under heavy physical stress. *Int J Sports Med* 1996; 17: 379-383.
104. Nieman DC. Immune response to heavy exertion. *J Appl Physiol* 1997; 82: 1385-1394.
105. Rall LC, Meydani SN. Vitamin B6 and immune competence. *Nutr Rev* 1993; 51: 217-225.
106. Tamura J, Kubota K, Murakami H, Sawamura M, Matsushima T, Tamura T, Saitoh T, Kurabayshi H, Naruse T. Immunomodulation by vitamin B12: augmentation of CD8+ T lymphocytes and natural killer (NK) cell activity in vitamin B12-deficient patients by methyl-B12 treatment. *Clin Exp Immunol* 1999; 116: 28-32.
107. van Asbeck BS, Marx JJ, Struyvenberg A, Verhoef J. Functional defects in phagocytic cells from patients with iron overload. *J Infect* 1984; 8: 232-240.

108. Prasad AS, Bao B, Beck FW, Sarkar FH. Zinc enhances the expression of interleukin-2 and interleukin-2 receptors in HUT-78 cells by way of NF-kappaB activation. *J Lab Clin Med* 2002; 140: 272-289.
109. King JC. Determinants of maternal zinc status during pregnancy. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(Suppl 5): 1334-1343.
110. Tam M, Gómez S, González-Gross M, Marcos A. Possible roles of magnesium on the immune system. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57: 1193-1197.
111. Berbel P, Obregón MJ, Bernal J, Escobar del Rey F, Morreale de Escobar G. Iodine supplementation during pregnancy: a public health challenge. *Trends Endocrinol Metab* 2007; 18: 338-343.
112. Keen C, Uriu-Adams J, Ensunsa J, Gershwin M. Trace elements/Minerals and immunity. In: Gershwin M, Nesterl P, Keen C editors. *Handbook of Nutrition and Immunity*. New Jersey: Human Press; 2004. p.117-140.
113. Wainwright PE. Dietary essential fatty acids and brain function: a developmental perspective on mechanisms. *Proc Nutr Soc* 2002; 61: 61-69.
114. Malcolm CA, McCulloch DL, Montgomery C, Shepherd A, Weaver LT. Maternal docosahexaenoic acid supplementation during pregnancy and visual evoked potential development in term infants: a double blind, prospective, randomised trial. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2003; 88: 383-390.
115. Koletzko B, Larqué E, Demmelmair H. Placental transfer of long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA). *J Perinat Med* 2007; 35(Suppl 1): 5-11.
116. Haggarty P. Effect of placental function on fatty acid requirements during pregnancy. *Eur J Clin Nutr* 2004; 58 : 1559-1570.
117. Isolauri E, Arvola T, Sutas Y, Moilanen E, Salminen S. Probiotics in the management of atopic eczema. *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 1604-1610.

-
118. Rautava S, Kalliomaki M, Isolauri E. Probiotics during pregnancy and breast-feeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 119-1121.
119. Mastretta E, Longo P, Laccisaglia A, Balbo L, Russo R, Mazzaccara A, Gianino P. Effect of *Lactobacillus GG* and breast-feeding in the prevention of rotavirus nosocomial infection. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 35: 527-531.
120. Schultz M, Gottl C, Young RJ, Iwen P, Vanderhoof JA. Administration of oral probiotic bacteria to pregnant women causes temporary infantile colonization. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 38: 293-297.
121. Rinne M, Kalliomaki M, Arvilommi H, Salminen S, Isolauri E. Effect of probiotics and breastfeeding on the bifidobacterium and lactobacillus/enterococcus microbiota and humoral immune responses. *J Pediatr* 2005; 147: 186-191.
122. Ogawa M, Shimizu K, Nomoto K, Takahashi M, Watanuki M, Tanaka R, Tanaka T, Hamabata T, Yamasaki S, Takeda Y. Protective effect of *Lactobacillus casei* strain Shirota on Shiga toxin-producing *Escherichia coli* 0157:H7 infection in infant rabbits. *Infect Immun* 2001; 69: 1101-1108.
123. Maassen CB, van Holten-Neelen C, Balk F, den Bak-Glashouwer MJ, Leer RJ, Laman JD, Boersma WJ, Claassen E. Strain-dependent induction of cytokine profiles in the gut by orally administered *Lactobacillus* strain. *Vaccine* 2000; 18: 2613-2623.
124. Spanhaak S, Havenaar R, Schaafsma G. The effect of consumption of milk fermented by *Lactobacillus casei* strain Shirota on the intestinal microflora and immune parameters in humans. *Eur J Clin Nutr* 1998; 52: 899-907.
125. Matsuzaki T. Immunomodulation by treatment with *Lactobacillus casei* strain Shirota. *Int J Food Microbiol* 1998; 41: 133-140.

-
126. Kato I, Tanaka K, Yokokura T. Lactic acid bacterium potently induces the production of interleukin-12 and interferon-gamma by mouse splenocytes. *Int J Immunopharmacol* 1999; 21: 121-131.
127. Hori T, Kiyoshima J, Shida K, Yasui H. Augmentation of cellular immunity and reduction of influenza virus titer in aged mice fed *Lactobacillus casei* strain Shirota. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9: 105-108.
128. Bautista-Garfias CR, Ixta-Rodriguez O, Martínez-Gómez F, López MG, Aguilar-Figueroa BR. Effect of viable or dead *Lactobacillus casei* organisms administered orally to mice on resistance against *Trichinella spiralis* infection. *Parasite* 2001; 8(Suppl 2): 226-228.
129. Nagao F, Nakayama M, Muto T, Okumura K. Effects of a fermented milk drink containing *Lactobacillus casei* strain Shirota on the immune system in healthy human subjects. *Biosci Biotechnol Biochem* 2000; 64: 2706-2708.
130. Oozeer R, Leplingard A, Mater DD, Mogenet A, Michelin R, Seksek I, Marteau P, Doré J, Bresson JL, Corthier G. Survival of *Lactobacillus casei* in the human digestive tract after consumption of fermented milk. *Appl Environ Microbiol* 2006; 72: 5615-5617.
131. Thoreux K, Balas D, Bouley C, Senegas-Balas F. Diet Supplemented with Yoghurt or Milk Fermented by *Lactobacillus casei* DN-114001 Stimulates Growth and Brush-Border Enzyme Activities in Mouse Small Intestine. *Digestion* 1998; 59: 349-359
132. Guerin-Danan C, Chabanet C, Pedone C, Popot F, Vaissade P, Bouley C, Szylit O, Andrieux C. Milk fermented with yogurt cultures and *Lactobacillus casei* compared with yogurt and gelled milk: influence on intestinal microflora in healthy infants. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 111-117.
133. Turchet P, Laurenzano M, Auboiron S, Antoine JM. Effect of fermented milk containing the probiotic *Lactobacillus casei* DN-114001 on winter infections in free-living elderly subjects: a randomised, controlled pilot study. *J Nutr Health Aging* 2003; 7: 75-77.

-
134. Paubert-Braquet M, Xiao-Hu Gan, Gaudichon C, Hedef F, Serikoff A, Bouley C, Bonavida B, Braquet P. Enhancement of host resistance against Salmonella Typhimurium in mice fed a diet supplemented with yogurt or milks fermented with various Lactobacillus case strains. *Int J Immunother* 1995; 11: 153-161.
135. Pedone CA, Bernabeu AO, Postaire ER, Bouley CF, Reinert P. The effect of supplementation with milk fermented by lactobacillus casei DN-114 001, on acute diarrhoea in children attending day care centres. *Int J Clin Pract* 1999; 53: 179-184.
136. Pedone CA, Arnaud CC, Postaire ER, Bouley CF, Reinert P. Multicentric study of the effect of milk fermented by Lactobacillus casei on the incidence of diarrhoea. *Int J Clin Pract* 2000; 54: 568-571.
137. Cremonini F, Di Caro S, Nista EC, Bartolozzi F, Capelli G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Meta-analysis: the effect of probiotic administration on antibiotic-associated diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1461-1467.
138. Vanderhoof JA, Whitney DB, Antonson DL, Hanner TL, Lupo JV, Young RJ. Lactobacillus GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. *J Pediatr* 1999; 135: 564-568.
139. Parra D, De Morentin BM, Cobo JM, Mateos A, Martínez JA. Monocyte function in healthy middle-aged people receiving fermented milk containing Lactobacillus casei. *J Nutr Health Aging* 2004; 8: 208-211.
140. Parra MD, Martínez de Morentin BE, Cobo JM, Mateos A, Martínez JA. Daily ingestion of fermented milk containing Lactobacillus casei DN114001 improves innate-defense capacity in healthy middle-aged people. *J Physiol Biochem* 2004; 60: 85-91.
141. Sackjs G, Sargent I, Redman C. An innate view of human pregnancy. *Immunol Today* 1999; 20: 114-118.

142. Rigotti E, Piacentini GL, Ressa M, Pigozzi R, Boner AL, Peroni DG. Transforming growth factor-beta and interleukin-10 in breast milk and development of atopic diseases in infants. *Clin Exp Allergy* 2006; 36: 614-618.
143. Serra Majem L, Ribas Barba L, Armas Navarro A, Alvarez León E, Sierra A, y el Equipo de investigación de ENCA. Ingesta de energía y nutrientes y riesgo de ingestas inadecuadas en Canarias (1997-98). *Arch Latinoam Nutr* 2000; 50(Supl 1): 7-22.
144. Serra Majem L, Cabrera León A, Sierra López A. Conclusiones de la Encuesta de Nutrición de Canarias (1997-98). Bases para una política de nutrición en Canarias. *Arch Latinoam Nutr* 2000; 50(Supl 1): 62-70.
145. Mataix J, Mañas M, Llopis J, Martínez de Victoria E. Tabla de composición de alimentos españoles. Granada: Universidad de Granada; 1993.
146. Ortega RM. Dietary guidelines for pregnant women. *Public Health Nutr* 2001 ;4: 1343-1346.
147. Kennedy ET, Ohls J, Carlson S, Fleming K. The Healthy Eating Index: design and applications. *J Am Diet Assoc* 1995; 95: 1103-1108.
148. Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad. Consenso SEEDO'2000 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. *Med Clin (Barc)* 2000, 115: 587-597
149. Hawkes JS, Bryan DL, James MJ, Gibson RA. Cytokines (IL-1beta, IL-6, TNF-alpha, TGF-beta1, and TGF-beta2) and prostaglandin E2 in human milk during the first three months postpartum. *Pediatr Res* 1999; 46:194-199.
150. Marcos A, Warnberg J, Nova E, Gomez S, Alvarez A, Alvarez R, Mateos JA, Cobo JM. The effect of milk fermented by yogurt cultures plus *Lactobacillus casei* DN-114001 on the immune response of subjects under academic examination stress. *Eur J Nutr* 2004; 43: 381-389.

151. Meyer AL, Elmadfa I, Herbacek I, Micksche M. Probiotic, as well as conventional yogurt, can enhance the stimulated production of proinflammatory cytokines. *J Hum Nutr Diet* 2007; 20: 590-598.
152. Vaarala O. Immunological effects of probiotics with special reference to lactobacilli. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 1634-1640.
153. Moore DC, Elsas PX, Maximiano ES, Elsas MI. Impact of diet on the immunological microenvironment of the pregnant uterus and its relationship to allergic disease in the offspring--a review of the recent literature. *Sao Paulo Med J* 2006; 124: 298-303.
154. Shimaoka Y, Hidaka Y, Tada H, Nakamura T, Mitsuda N, Morimoto Y, Murata Y, Amino N. Changes in cytokine production during and after normal pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2000; 44: 143-147.
155. Thellin O, Heinen E. Pregnancy and the immune system: between tolerance and rejection. *Toxicology* 2003; 185: 179-184.
156. Pearson H. Reproductive immunology: Immunity's pregnant pause. *Nature* 2002; 420: 265-266.
157. Gustafsson C, Hummerdal P, Matthiesen L, Berg G, Ekerfelt C, Ernerudh J. Cytokine secretion in decidual mononuclear cells from term human pregnancy with or without labour: ELISPOT detection of IFN-gamma, IL-4, IL-10, TGF-beta and TNF-alpha. *J Reprod Immunol* 2006, 71: 41-56.
158. Bendelac A, Savage PB, Teyton L. The biology of NKT cells. *Annu Rev Immunol* 2007; 25: 297-336.
159. Matsuzaki T, Chin J. Modulating immune responses with probiotic bacteria. *Immunol Cell Biol* 2000; 78: 67-73.
160. Fang H, Elina T, Heikki A, Seppo S. Modulation of humoral immune response through probiotic intake. *Immunol Med Microbiol* 2000; 29: 47-52.

161. Yasui H, Shida K, Matsuzaki T, Yokokura T. Immunomodulatory function of lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1999; 76: 383-389.
162. López-Alarcón M, Villalpando S, Fajardo A. Breast-feeding lowers the frequency and duration of acute respiratory infection and diarrhea in infants under six months of age. *J Nutr* 1997; 127: 436-443.
163. Wrigth AL, Bauer M, Taylor A, Sutcliffe E, Clark L. Increasing breastfeeding rates to reduce infant illness at the community level. *Pediatrics* 1998; 101: 837-844.
164. Bo Lonnerdal. Immunological considerations of breast milk. En: *Nutrition and Immunology: Principles and Practice*. Gershwin ME, German JB, Keen CL, editors. Human Press, Inc., Totowa, NJ, 2000; p. 171-179.
165. Hosea Blewett HJ, Cicalo MC, Holland CD, Field CJ. The immunological components of human milk. *Adv Food Nutr Res* 2008; 54: 45-80.
166. Labbok MH, Clark D, Goldman AS. Breastfeeding: maintaining an irreplaceable immunological resource. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 565-572.
167. Dai D, Walker WA. Protective nutrients and bacterial colonization in the immature human gut. *Adv Pediatr* 1999; 46: 353-382.
168. Martín R, Langa S, Reviriego C, Jiménez E, Marín ML, Xaus J, Fernández L, Rodríguez JM. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. 1: *J Pediatr* 2003; 143: 754-758.
169. Favier CF, Vaughan EE, de Vos WM, Akkermans ADL. Molecular Monitoring of succession of bacterial communities in human neonates. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68: 219-226.
170. Estévez González MD, Martell Cebrián D, Medina Santana R, García Villanueva E, Saavedra Santana P. Factores relacionados con el abandono de la lactancia materna. *An Esp Pediatr* 2002; 56: 144-150

171. Faria AM, Weiner HL. Oral tolerance: therapeutic implications for autoimmune diseases. *Clin Dev Immunol* 2006; 13: 143-157.
172. Lack G. The concept of oral tolerance induction to foods. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program* 2007; 59:63-68.
173. Bottcher M, Jenmalm M, Garofalo R, Bjorksten Bengt. Cytokines in breast milk from allergic and nonallergic mothers. *Pediatr Res* 2000; 47: 157-162.
174. Oddy WH, Halonen M, Martinez FD, Lohman IC, Stern DA, Kurzius-Spencer M, Guerra S, Wright AL. TGF- β in human milk is associated with wheeze in infancy. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 723-728.
175. Ogawa J, Sasahara A, Yoshida T, Sira MM, Futatani T, Kanegane H, Miyawaki T. Role of transforming growth factor- β in breast milk for initiation of IgA production in newborn infants. *Early Hum Dev* 2004; 77: 67-75.
176. Hawkes JS, Bryan DL, Gibson RA. Variations in transforming growth factor beta in human milk are not related to levels in plasma. *Cytokine* 2002; 17: 182-186.
177. Hawkes JS, Bryan DL, Neumann MA, Makrides M, Gibson RA. Transforming growth factor beta in human milk does not change in response to modest intakes of docosahexaenoic acid. *Lipids* 2001; 36: 1179-1181.
178. Bottcher MF, Jenmalm MC, Bjorksten B. Cytokine, chemokine and secretory IgA levels in human milk in relation to atopic disease and IgA production in infants. *Pediatr Allergy Immunol* 2003; 14: 35-41.
179. Flores M, Filteau S. Effect of lactation counselling on subclinical mastitis among Bangladeshi women. *Ann Trop Paediatr* 2002; 1: 85-88.
180. Trégoat V, Montagne P, Béné M, Gilbert Faure. Increases of IgA milk concentrations correlate with IgA2 increment. *J Clin Lab Anal* 2001; 15: 55-58

181. Garofalo R, Chheda S, Mei F, Palkowetz KH, Rudloff HE, Schmalstieg FC, Rassin DK, Goldman AS. Interleukin-10 in human milk. *Pediatr Res* 1995; 37: 444-449.
182. Goldman AS. Modulation of the gastrointestinal tract of infants by human milk. Interfaces and interactions. An evolutionary perspective. *J Nutr* 2000; 130(Suppl 2): 426-431.
183. Takahata Y, Takada H, Nomura A, Ohshima K, Nakayama H, Tsuda T, Nakano H, Hara T. Interleukin-18 in human milk. *Pediatr Res* 2001; 50: 268-272
184. Bryan DL, Hawkes JS, Gibson RA. Interleukin-12 in human milk. *Pediatr Res* 1999; 45: 858-859.
185. Wallace JM, Ferguson SJ, Loane P, Kell M, Millar S, Gillmore WS. Cytokines in human breast milk. *Br J Biomed Sci* 1997; 54: 85-87.
186. Hawkes J, Sani-Louise B, Makrides M, Nemann M, Gibson R. A randomized trial of supplementaion with docosahexaenoic acid-rich tuna oil and its effects on the human milk cytoines interleukin 1 β , interleukin 6, and tumor necrosis factor α . *Am J Clin Nutr* 2002; 75: 754-760.
187. Lin HC, Su BH, Chen AC, Lin TW, Tsai CH, Yeh TF, Oh W. Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics* 2005; 115: 1-4.
188. Gomes L, Dias JA. A consistent pattern of minor immunodeficiency and subtle enteropathy in children with multiple food allergy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 39: 101-102.
189. Battablia FC, Meschia G. Fetal nutrition. *Ann Rev Nutr* 1988; 8: 43-61.
190. Jackson AA, Robinson SM. Dietary guidelines for pregnancy: a review of current evidence. *Public Health Nutr* 2001; 4: 625-630.
191. Van der Berg BJ. Maternal variables affecting fetal growth. *Am J Clin Nutr* 1981; 34: 722-726.

192. Anderson AS. Symposium on 'nutritional adaptation to pregnancy and lactation'. Pregnancy as a time for dietary change?. *Proc Nutr Soc* 2001; 60: 497-504.
193. Cárcel C, Quiles J, Rico B, Sanchos T. Adecuación de la ingesta nutricional de embarazadas de segundo y tercer trimestre. *Rev Esp Nutr Comunitaria* 2005; 11: 136-144.
194. Arija V, Cucó G, Vila J, Iranzo R, Fernández-Ballart J. Consumo, hábitos alimentarios y estado nutricional de la población de Reus en la etapa preconcepcional, el embarazo y el posparto. *Med Clin (Barc)* 2004; 123: 5-11.
195. Ortega RM, Gaspar MJ, Moreiras O. Dietary assessment of a pregnant Spanish women group. *Int J Vitam Nutr Res* 1994; 64: 130-134.
196. Irlés Rocamora JA, Iglesias Bravo EM, Avilés Mejías S, Bernal López E, de Valle Galindo PB, Moriones López L, Maetzu Aznar A, Mingo Canal D. Valor nutricional de la dieta en embarazadas sanas. Resultados de una encuesta dietética en gestantes. *Nutr Hosp* 2003; 18: 248-252.
197. Serra-Majem L, Aranceta J; SENC Working Group on Nutritional Objectives for the Spanish Population. Spanish Society of Community Nutrition. Nutritional objectives for the Spanish population. Consensus from the Spanish Society of Community Nutrition. *Public Health Nutr* 2001; 4: 1409-1413.
198. Erkkola M, Karppinen M, Järvinen A, Knip M, Virtanen SM. Folate, vitamin D, and iron intakes are low among pregnant Finnish women. *Eur J Clin Nutr* 1998; 52: 742-748.
199. Giddens JB, Krug SK, Tsang RC, Guo S, Miodovnik M, Prada JA. Pregnant adolescent and adult women have similarly low intakes of selected nutrients. *J Am Diet Assoc* 2000; 100: 1334-1340.
200. Pick ME, Edwards M, Moreau D, Ryan EA. Assessment of diet quality in pregnant women using the Healthy Eating Index. *J Am Diet Assoc* 2005; 105: 240-246.

201. Kaiser LL, Allen L; American Dietetic Association. Position of the American Dietetic Association: nutrition and lifestyle for a healthy pregnancy outcome. *J Am Diet Assoc* 2002; 102: 1479-1490.
202. Serra Majem L, Morales D, Domingo C, Caubet E, Ribas L, Nogués RM. Comparación de dos métodos de valoración de la ingesta de alimentos y nutrientes: recordatorio de 24 horas y cuestionario de frecuencia semicuantitativo. *Med Clin (Barc)* 1994; 103: 652-656.
203. Robinson S, Godfrey K, Osmond C, Cox V, Barker D. Evaluation of a food frequency questionnaire used to assess nutrient intakes in pregnant women. *Eur J Clin Nutr* 1996; 50: 302-308.
204. Brown JE, Buzzard IM, Jacobs DR Jr, Hannan PJ, Kushi LH, Barosso GM, Schmid LA. A food frequency questionnaire can detect pregnancy-related changes in diet. *J Am Diet Assoc* 1996; 96: 262-266.
205. Foz M. La deficiencia de yodo en España: un problema todavía no resuelto. *Med Clin (Barc)* 2004; 122: 459-460.
206. Shakhar K, Rosenne E, Loewenthal R, Shakhar G, Carp H, Ben-Eliyahu S. High NK cell activity in recurrent miscarriage: what are we really measuring? *Hum Reprod* 2006; 21: 2421-2425.
207. Shakhar K, Ben-Eliyahu S, Loewenthal R, Rosenne E, Carp H. Differences in number and activity of peripheral natural killer cells in primary versus secondary recurrent miscarriage. *Fertil Steril* 2003; 80: 368-375.

9. Anexos

ANEXO I

(CONSENTIMIENTO INFORMADO
HOJA DE INFORMACIÓN PARA LA PACIENTE)

CONSENTIMIENTO INFORMADO

“EVALUACIÓN DE LA INMUNOMODULACIÓN DURANTE EL PUERPERIO CON LA INGESTA DE LECHE FERMENTADA CON *LACTOBACILLUS CASEI*”

Yo, he leído la hoja de información que se
(Nombre y Apellidos)

me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con quien me ha presentado el estudio y me
(Nombre del Investigador)

ha invitado a participar en el mismo.

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- Cuando quiera.
- Sin tener que dar explicaciones.
- Sin que ello repercuta en mis cuidados médicos.

Acepto que me realicen las extracciones de sangre y leche que indican en el estudio.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Fecha y Firma de la participante

Fecha y Firma del investigador

HOJA DE INFORMACIÓN PARA LA PACIENTE

“EVALUACIÓN DE LA INMUNOMODULACIÓN DURANTE EL PUERPERIO CON LA INGESTA DE LECHE FERMENTADA CON *LACTOBACILLUS CASEI*”

Antecedentes y objetivos

Este estudio es la primera vez que se realiza en el mundo y el objetivo es determinar en qué medida el consumo de leche fermentada con *Lactobacillus casei*, ayuda a restablecer el equilibrio inmunitario durante el puerperio y los beneficios que este consumo produce en el crecimiento y desarrollo del niño.

Descripción del estudio

En este estudio participarán 104 mujeres que serán seleccionadas a partir de las Charlas de Educación Maternal que se dictan en los centros de salud de Gran Canaria, allí se les informará del estudio y se las invitará a participar, luego se programará una cita con el obstetra quien evaluará si cumplen con los criterios de inclusión y exclusión que se establecen en el protocolo. Las mujeres serán asignadas aleatoriamente (al azar) a uno de los dos grupos de tratamiento: un grupo consumirá leche fermentada con *Lactobacillus casei*, y el otro grupo consumirá leche fermentada sin *Lactobacillus casei*. La administración de los productos será de 3 tomas diarias, durante 6 semanas. Es importante destacar que el **consumo de antiácidos interfiere en la absorción de los productos**, por lo tanto si usted consume antiácidos se recomienda que la **administración de los productos del estudio se realice 2 horas después de la toma de antiácidos**.

Se realizarán 3 tomas de muestra de sangre y de leche materna y se realizará un seguimiento de la evolución del niño hasta los 6 meses de vida.

Se cumplimentará un cuestionario de nutrición a la madre lactante, y un cuestionario para valorar la calidad de vida durante el período de ingesta de los productos del estudio en la madre lactante.

Procedimientos del estudio

Las participantes del estudio serán reclutadas en las reuniones de Educación Maternal que se realizan en los centros de salud de Gran Canaria, allí se les informará del estudio, y se las

invitará a participar del mismo. Con aquellas mujeres que deseen formar parte del estudio se programará una cita con el obstetra, y se les solicitará que asistan a la misma llevando la cartilla y los resultados de las pruebas analíticas que les han practicado durante el embarazo. En esta entrevista el médico valorará los criterios de inclusión y exclusión y se les hará firmar el consentimiento informado a aquellas mujeres que cumplan con dichos criterio.

Visita de inicio del estudio

- Se realizará dentro de las 72hs posteriores al parto, esta visita se realizará en el Hospital Universitario Materno-Infantil de Gran Canaria.
- Se interrogará sobre el parto y se valorarán nuevamente los criterios de inclusión/exclusión.
- Se asignará el número de aleatorización correspondiente.
- Se realizará la primera extracción de sangre y la toma de muestra de leche materna, que corresponderán a los valores basales de las variables antes de comenzar con la administración de ACTIMEL® o placebo.
- Se programará el día de inicio de la administración de ACTIMEL® o del placebo.
- Se cumplimentará el cuestionario de hábitos alimentarios.
- Se entregarán los Diarios del Estudio.
- Se concertará la segunda visita entre los 7 y los 10 días posteriores a la administración de ACTIMEL® o placebo.

Segunda visita

- La segunda visita se realizará en el domicilio de la participante del estudio, se programará entre los 7 y 10 días posteriores del comienzo de la administración de ACTIMEL® o placebo.
- Se tomará la segunda muestra de sangre y de leche.
- Se valorará el Diario de la Madre y del Niño.
- Se concertará la tercera visita.

Tercera visita

- Se realizará también en el domicilio de la participante, se programará cuando termine la administración de ACTIMEL® o placebo que será de 6 semanas, por lo tanto la visita se concretará entre los 42-45 días posteriores al comienzo de la ingesta de ACTIMEL® o placebo.

- Se hará la tercera y última extracción de sangre y leche materna.
- Se cumplimentará el cuestionario de calidad de vida SF-36.
- Se recoge el Diario de la Madre y se valorará el Diario del Niño.

Primera valoración del niño

- Se realizará dentro de las 72 hs posteriores al parto, esta visita se realizará en el Hospital Universitario Materno-Infantil de Gran Canaria.
- Se completará una Ficha Pediátrica, donde se registrarán las características antropométricas del recién nacido.

Segunda valoración del niño

- Se realizará en el Hospital Universitario Materno-Infantil de Gran Canaria por el Pediatra del equipo de investigación y se programará a los 2 meses de vida del niño.
- Se cumplimentará la información requerida en una ficha pediátrica, valorando el Diario del Niño.

Tercera valoración del niño

- Se realizará también en el Hospital Universitario Materno-Infantil de Gran Canaria por el Pediatra del equipo de investigación y se programará a los 6 meses de vida del niño.
- Se completará la ficha pediátrica, valorando el Diario del Niño.

Restricciones

Desde el momento que el obstetra establece que la paciente reúne los criterios de inclusión y exclusión y la paciente firma el consentimiento informado, no deberá tomar ningún tipo de leche fermentada hasta la entrega de los productos del estudio.

Retirada de participantes del estudio

Las mujeres pueden ser retiradas del estudio por las siguientes razones:

- Por petición propia o de su representante legal
- Por decisión del investigador

Se retirarán a las mujeres del estudio **cuando hayan olvidado de más de 3 tomas seguidas de Actimel®** documentadas en el diario del estudio.

Riesgos

Los procedimientos del estudio no revisten ningún riesgo para la salud, siendo el producto que se administrará en el grupo de intervención un alimento comercializado de libre uso en España y en el grupo control el mismo alimento sin *Lactobacillus casei*.

Beneficios

Su participación en este estudio, ayudará a los investigadores a determinar los beneficios que un alimento comercializado de libre uso en España, tiene sobre su salud y sobre la salud, crecimiento y desarrollo de su hijo.

Confidencialidad

Toda la información obtenida en este estudio será considerada confidencial y será usada sólo a efectos de investigación.

Participación voluntaria

Su participación en este estudio es totalmente voluntaria. En caso de que decidiera no participar, o decidiese retirarse del estudio en cualquier momento del mismo, no perderá ninguno de los beneficios de atención sanitaria a los que tiene derecho, ni tendrá usted que dar explicación alguna de las causas que motivan dicha retirada.

ANEXO II

(CUESTIONARIO DE NUTRICIÓN Y SALUD
DE LA MADRE LACTANTE)

**CUESTIONARIO DE
NUTRICIÓN Y SALUD DE LA
MADRE LACTANTE**

CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS

A continuación le preguntaré con que frecuencia acostumbraba a tomar una serie de alimentos durante el embarazo, debe responder si los tomó:

NUNCA (N)

DIARIAMENTE (D)

SEMANALMENTE (S)

MENSUALMENTE (M)

ANUALMENTE (A)

indicando cuantas veces los ha tomado y también debe responder si el consumo anterior al embarazo fue mayor o menor :

1 = MAYOR

2 = MENOR

3 = IGUAL

CEREALES, LEGUMBRES	N	D	S	M	A	Antes Emb.
1. Pan blanco (2-3 rebanadas)						<input type="checkbox"/>
2. Pan integral (2-3 rebanadas)						<input type="checkbox"/>
3. Pasta: macarrones, spaghettis (1plato)						<input type="checkbox"/>
4. Arroz hervido (1plato)						<input type="checkbox"/>
5. Cereales dulces (desayuno) (1/2 taza)						<input type="checkbox"/>
6. Gofio de trigo (2cucharadas)						<input type="checkbox"/>
7. Gofio de millo (2cucharadas)						<input type="checkbox"/>
8. Papas sancochadas, guisadas (100g)						<input type="checkbox"/>
9. Papas chips fritas (100g)						<input type="checkbox"/>
10. Legumbres (1plato) (potage,cocido)						<input type="checkbox"/>

CARNES, HUEVOS, PESCADOS	N	D	S	M	A	Antes Emb.
11. Carne de vaca-ternera (bistec, hamburguesa) (120g)						<input type="checkbox"/>
12. Carne de cochino (excepto embutidos) (120g)						<input type="checkbox"/>
13. Jamón (cocido o serrano) (40g)						<input type="checkbox"/>
14. Mortadela, chorizo, salchichón, otros embutidos (40g)						<input type="checkbox"/>
15. Hígado (120g)						<input type="checkbox"/>
16. Otras vísceras (riñones, sesos) (120g)						<input type="checkbox"/>
17. Carne de aves (pollo..) o conejo (120g)						<input type="checkbox"/>
18. Carne de cabra, cabrito, cordero (120g)						<input type="checkbox"/>
19. Huevos (1uno)						<input type="checkbox"/>
20. Pescado blanco (sama, viejas, cherne) (150g)						<input type="checkbox"/>
21. Pescado azul (longorones, guelde, sardina, atún...) (120g)						<input type="checkbox"/>
22. Pulpo, calamar, choco (120g)						<input type="checkbox"/>
23. Marisco (gambas, lapas, mejillones...) (120g)						<input type="checkbox"/>

FRUTAS	N	D	S	M	A	Antes Emb.
24. Manzana (1 pieza)						<input type="checkbox"/>
25. Aguacate (1 pieza)						<input type="checkbox"/>
26. Naranja (1), mandarinas (2), Kiwis (2)						<input type="checkbox"/>
27. Plátanos (1 pieza)						<input type="checkbox"/>
28. Papaya, mangas (1 ración)						<input type="checkbox"/>
29. Zumos de fruta naturales (1 vaso)						<input type="checkbox"/>
30. Mermeladas, frutas almíbar o conservas (2 cucharadas/piezas)						<input type="checkbox"/>

VERDURAS	N	D	S	M	A	Antes Emb.
31. Potaje de verduras o caldo de papas (1 plato/taza)						<input type="checkbox"/>
32. Lechuga o ensaladas (1 plato)						<input type="checkbox"/>
33. Verduras sancochadas (judías verdes, acelgas...) (1 plato)						<input type="checkbox"/>
34. Tomate crudo (1 unidad)						<input type="checkbox"/>
35. Tomate guisado (1 cucharada)						<input type="checkbox"/>
36. Cebollas o pimientos (crudos) (1 unidad)						<input type="checkbox"/>
37. Cebollas o pimientos (guisados) (1 unidad)						<input type="checkbox"/>
38. Otras hortalizas (guisadas o crudas) (1 uni/1 pla)						<input type="checkbox"/>

LÁCTEOS	N	D	S	M	A	Antes Emb.
39. Leche entera (1 vaso)						<input type="checkbox"/>
40. Leche semidesnatada (1 vaso)						<input type="checkbox"/>
41. Leche desnatada (1 vaso)						<input type="checkbox"/>
42. Leche con grasa vegetal (tipo Millac) (1 vaso)						<input type="checkbox"/>
43. Leches fermentadas (1unidad)						<input type="checkbox"/>
44. Flan, natillas (1 unidad)						<input type="checkbox"/>
45. Yogur natural (1 unidad)						<input type="checkbox"/>
46. Yogures de fruta (1 unidad)						<input type="checkbox"/>
47. Yogures desnatados (1 unidad)						<input type="checkbox"/>
48. Yogures con grasa vegetal tipo Millac (1 unidad)						<input type="checkbox"/>
49. Nata, crema de leche (1 cucharada)						<input type="checkbox"/>
50. Queso tierno o fresco (120g)						<input type="checkbox"/>
51. Queso semiseco (majorero, palmero,...) (60g)						<input type="checkbox"/>
52. Queso seco (majorero, manchego) (40g)						<input type="checkbox"/>

GRASAS - ACEITES	N	D	S	M	A	Antes Emb.
53. Mantequilla (1 porción)						<input type="checkbox"/>
54. Margarina (1 porción Individual)						<input type="checkbox"/>
55. Aceite de oliva (1 cucharada/sopera)						<input type="checkbox"/>
56. Aceite de girasol o soja (1 cucharada)						<input type="checkbox"/>
57. Aceite de maíz (1 cucharada)						<input type="checkbox"/>
58. Mayonesa (1 cucharada)						<input type="checkbox"/>
59. Aceitunas (10 unidades)						<input type="checkbox"/>
60. Tocino, manteca de cerdo (1 cucharada)						<input type="checkbox"/>
61. Ketchup, mostaza (1 cucharada)						<input type="checkbox"/>

SALADOS	N	D	S	M	A	Antes Emb.
62. Sal (1 pizca)						<input type="checkbox"/>
63. Frutos secos (almendras, pistachos,...) (1 puñado)						<input type="checkbox"/>

DULCES	N	D	S	M	A	Antes Emb.
64. Azúcar (1 cucharadita de postre)						<input type="checkbox"/>
65. Miel (1 cucharadita de postre)						<input type="checkbox"/>
66. Bollería (matahambre, donuts, "croissants", ...) (1 unidad)						<input type="checkbox"/>
67. Dulces y pasteles (1 porción individual)						<input type="checkbox"/>
68. Galletas (4-5 unidades)						<input type="checkbox"/>
69. Caramelos y golosinas (1 unidad)						<input type="checkbox"/>
70. Chocolate (1 onza de tableta)						<input type="checkbox"/>
71. Helado (1 cucurucho)						<input type="checkbox"/>

BEBIDAS	N	D	S	M	A	Antes Emb.
72. Bebidas refrescantes con gas (1 vaso)						<input type="checkbox"/>
73. Bebidas refrescantes sin gas (1 vaso)						<input type="checkbox"/>
74. Café (1 taza)						<input type="checkbox"/>
75. Té (1 taza)						<input type="checkbox"/>
76. Cerveza (1 vaso)						<input type="checkbox"/>
77. Vino de mesa, champagne – cava (1 vaso/1 copa)						<input type="checkbox"/>
78. Chupito de melocotón, manzana (1 vasito)						<input type="checkbox"/>
79. Licores, brandy (ginebra, ron) whisky, combinado						<input type="checkbox"/>
80. Vodka, aguardiente (1 copa)						<input type="checkbox"/>
81. Agua del grifo (1 vaso)						<input type="checkbox"/>
82. Agua mineral sin gas (1 vaso)						<input type="checkbox"/>
83. Agua mineral con gas (1 vaso)						<input type="checkbox"/>

EVOLUCIÓN SOCIOECONÓMICA

1. Estado civil

- 1. Soltera
- 2. Casada o en pareja
- 3. Divorciada / Viuda

2. ¿Cuántas personas conviven en el hogar (contándose usted)?

3. ¿Cuál es el nivel máximo de estudios que ha alcanzado?

- 1. Primaria incompleta
- 2. EGB, ESO o similar
- 3. Formación profesional
- 4. Bachillerato, BUP, secundaria o similar
- 5. COU o similar
- 6. Estudios universitarios de grado medio (escuela universitaria)
- 7. Estudios de grado superior (facultad o escuela técnica superior)

4. ¿Cuál es su profesión?

.....

5. ¿Cuál es su situación laboral?

- 1. Trabaja
- 2. Parada (continuar pregunta 7)
- 3. Ama de casa
- 4. Estudiante
- 5. Trabaja y estudia

6. ¿Qué horario realiza en su trabajo?

- 1. Jornada partida
- 2. Jornada continua principalmente mañanas
- 3. Jornada continua principalmente tardes
- 4. Jornada continua principalmente noches
- 5. Turnos
- 6. Otras situaciones.....

7. ¿Cuánto tiempo lleva parada?

 meses

HÁBITOS ALIMENTARIOS

8. Habitualmente ¿cuál de las siguientes comidas realiza?

1. Sí 2. No

- Al levantarse
- Desayuno antes de salir de casa
- Media mañana
- Comida
- Merienda
- Cena
- Comer entre horas
- TOTAL

9. Habitualmente, durante la semana laboral (de la mañana del lunes, al mediodía del viernes), ¿con qué frecuencia?

- 1. Todos los días
- 2. Casi todos los días
- 3. La mitad de los días
- 4. Casi nunca
- 5. Nunca

- Desayuna en casa
- Come en casa
- Cena en casa

10. ¿Qué grasa acostumbra a utilizar para:

- 1. Aceite de oliva virgen
- 2. Aceite de oliva
- 3. Aceite de girasol
- 4. Aceite de maíz
- 5. Manteca
- 6. Mantequilla
- 7. Margarina
- 8. Otros aceite vegetales

- Freír?
- Cocinar?
- Aliñar?

ANTROPOMETRÍA

11. Peso al inicio del embarazo Kg12. Peso anterior al parto Kg

EVALUACIÓN GENERAL

14. Antes del embarazo ¿se ha considerado obesa o con sobrepeso?

1. Sí
2. No

15. ¿Ha intentado reducir peso alguna vez?

1. Sí
2. No

16. Número de hijos

17. Número de abortos

18. Edad en el nacimiento del primer hijo

19. Meses totales de lactancia materna

20. ¿Ha tomado usted píldoras anticonceptivas?

1. Sí
2. No

EVALUACIÓN GENERAL (Continuación)**21. En el embarazo, los vómitos han persistido durante:**

1. Primer trimestre
2. Segundo trimestre
3. Tercer trimestre

CONSUMO DE TABACO**23. ¿Ha fumado durante el embarazo?**

1. Sí, regularmente
2. No
3. Ocasionalmente

24. ¿Ha fumado alguna vez?

1. Sí regularmente (al menos 6 meses)
2. No
3. Ocasionalmente

25. ¿Cuándo dejó de fumar?

1. Hace menos de un mes
2. Entre 1 y 9 meses
3. Hace más de 9 meses

ACTIVIDAD FÍSICA

26. Antes del embarazo, ¿realizaba ejercicios físicos?

1. Diariamente
2. 2-3 veces a la semana
3. 1 vez a la semana
4. 2-3 veces al mes
5. Alguna vez al año o menos
6. No puedo por incapacidad o enfermedad

27. ¿Ha realizado algún ejercicio físico durante el embarazo?

1. Sí
2. No

28. ¿Ha realizado gimnasia preparto?

1. Sí
2. No

29. ¿Cuánto ha caminado diariamente, durante el embarazo?

Escribir el número de minutos

30. ¿Qué tipo de actividad física realiza en su trabajo, estudio o labores de casa?

1. En mi trabajo estoy básicamente sentado y ando poco
2. En mi trabajo ando bastante pero no realizo ningún esfuerzo vigoroso
3. En mi trabajo ando y hago esfuerzos vigorosos frecuentemente

ANEXO III

(FICHAS PEDIÁTRICAS PARA EL
SEGUIMIENTO DEL NIÑO)

PRIMERA VALORACIÓN DEL RECIÉN NACIDO

(dentro de las 72 h posteriores al parto)

- Datos del parto.
- Datos del recién nacido.
- Vacunaciones.
- Anamnesis familiar

DATOS DEL PARTO

Fecha Visita:
Día Mes Año

Semanas de gestación:

Presentación fetal del recién nacido:

Eutócico Distócico

Tipo de parto:

Inducido Dirigido Instrumental

Malestar fetal: Sí No

Monitorizado: Sí No

Uso de anestésico: Sí No

Lugar del parto:

Hospital Ambulatorio En casa Otros

En caso de respuesta 'Otros' especificar:

Duración del parto:
Horas Minutos

DATOS DEL RECIÉN NACIDO

Apgar (valor comprendido entre 1 y 9):

Meconio: Sí No

Orina (dentro de las primeras 24 h): Sí No

Peso: g **Talla:** , cm

Perímetro cefálico: cm

PERÍODO NEONATAL:

.....
.....

SCREENING NEONATAL:

.....
.....

VACUNACIONES

Hepatitis B: Sí No

Otras: Sí No

En caso de respuesta AFIRMATIVA, especificar:

- 1.-.....
- 2.-.....
- 3.-.....

ANAMNESIS FAMILIAR

¿Existe cosanguinidad entre los padres? Sí No

Datos de los progenitores:

DATOS	PADRE	MADRE
Edad	<input type="text"/> años	<input type="text"/> años
Profesión ⁽¹⁾	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Enfermedades	Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>

- (1) 1. Directivos administración y empresa 5. Sector secundario
 2. Técnicos y profesionales 6. Sector servicios
 3. Administrativos 7. Otros
 4. Sector primario

El recién nacido, presenta antecedentes de:

	SI	NO		SI	NO
01. Sistema cardiovascular....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	08. Sistema hematológico.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
02. Sistema nervioso central..	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	09. Músculo-Esquelético.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
03. Organos de los sentidos..	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	10. Patología endocrina, metabólica		
04. Piel y tejido subcutáneo...	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	o inmunitaria.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
05. Aparato respiratorio.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	11. Neoplasias (especificar tipo).....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
06. Aparato digestivo.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	12. Hábitos tóxicos.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
07. Aparato genitourinario.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	13. Alergias	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
			14. Otros	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Nº	Descripción de Patología	Padre/Madre	Otro familiar
		<input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/>	
		<input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/>	
		<input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/>	
		<input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/>	
		<input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/>	
		<input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/>	
		<input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/>	

SEGUNDA VALORACIÓN DEL NIÑO

(2 meses)

- Datos del niño.
- Anamnesis personal.
- Vacunaciones.
- Alimentación.
- Anamnesis familiar.
- Exploración física.
- Finalización del estudio.

Fecha Visita:
Día Mes Año

DATOS DEL NIÑO

Peso: , Kg

Perímetro cefálico: cm

Talla: , cm

ANAMNESIS PERSONAL

1. ¿Asiste el niño a la guardería? Sí No

En caso de respuesta AFIRMATIVA, especificar fecha de inicio:

Fecha de inicio: / / Número de días de asistencia: días
Día Mes Año

2. ¿Ha tomado algún medicamento? Sí No

En caso de respuesta AFIRMATIVA, especificar en la siguiente tabla:

Nombre comercial o principio activo	Dosis	Indicación
1.-		
2.-		
3.-		

3. ¿Ha necesitado alguna pomada o tratamiento local? Sí No

En caso de respuesta AFIRMATIVA, especificar en la siguiente tabla:

Nombre comercial o principio activo	Dosis	Indicación
1.-		
2.-		
3.-		

VACUNACIONES

D.P.T. + HIB + Polio: Sí No Meningococo C: Sí No

Hepatitis B: Sí No Neumococo: Sí No

ALIMENTACIÓN

¿Continúa el niño con la lactancia? Sí No

En caso de respuesta NEGATIVA, especificar fecha de finalización:

Fecha finalización de la lactancia: / /
Día Mes Año

EXPLORACIÓN FÍSICA

SI NO

¿ Se ha realizado la exploración física?

Si se ha realizado la exploración, evalúe los resultado siguientes:

	Normal	Anormal	No realiz.	Especificar en caso de anomalidad:
01. Aspecto general	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
02. Estado nutritivo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
03. Piel y mucosas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
04. Cabeza	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
05. Cuello	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
06. Ojos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
07. Agudeza visual	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
08. O.R.L.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
09. Agudeza auditiva	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
10. Tórax	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
11. Abdomen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
12. Genitales	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
13. Chorro miccional	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
14. Locomotor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
14.1. Columna	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
14.2. Caderas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
14.3. Extremidades	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
14.4. Pies	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
15. Nervioso	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____

ANAMNESIS FAMILIAR

Número de hermanos:

Datos de los hermanos:

	EDAD	ESCOLARIZADO	ENFERMEDADES
HERMANO-1	<input type="text"/> <input type="text"/>	Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
HERMANO-2	<input type="text"/> <input type="text"/>	Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
HERMANO-3	<input type="text"/> <input type="text"/>	Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
HERMANO-4	<input type="text"/> <input type="text"/>	Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
HERMANO-5	<input type="text"/> <input type="text"/>	Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>

Los hermanos, presentan antecedentes de:

- | | SI | NO | | SI | NO |
|---------------------------------|--------------------------|--------------------------|---|--------------------------|--------------------------|
| 01. Sistema cardiovascular.... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 08. Sistema hematológico..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 02. Sistema nervioso central.. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 09. Músculo-Esquelético..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 03. Organos de los sentidos.. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 10. Patología endocrina, metabólica
o inmunitaria..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 04. Piel y tejido subcutáneo... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 11. Neoplasias (especificar tipo)..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 05. Aparato respiratorio..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 12. Hábitos tóxicos..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 06. Aparato digestivo..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 13. Alergias | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 07. Aparato genitourinario..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 14. Otros | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Nº	Descripción de Patología	Fecha inicio	Fecha fin
	 / / / /
	 / / / /
	 / / / /
	 / / / /
	 / / / /
	 / / / /
	 / / / /
	 / / / /

FINALIZACIÓN DEL ESTUDIO

¿ Ha abandonado o se ha retirado la paciente del estudio ? Sí No

En caso afirmativo por favor, remítase al formulario de **FINALIZACIÓN DEL ESTUDIO**.

Remítase a la página 58.

Firma del investigador: Fecha:

Día Mes Año

INFECCIONES	NO	SI	FECHA	Nº /día o Duración (en días)	TRATAMIENTO		DÍAS TRATAMIENTO
					SINTOMÁTICO	ANTIBIÓTICO	
VÍAS ALTAS:							
• Otitis externa							
• Otitis media							
• Rinitis/ Adenoiditis							
• Faringitis/Amigdalitis							
• Laringitis							
VÍAS BAJAS							
• Bronquitis							
• Neumonía							
• Bronquiolitis							
GASTROINTESTINALES							
• Muguet "hollin"							
• Regurgitaciones/Vómitos							
• Diarrea aguda							
1-Nº deposiciones/día							
2-Duración (en días)							
• Cólicos							
• Estreñimiento							
1-Nº deposiciones/día							
OTRAS							
• Alergias							
• Infección urinaria							

INFECCIONES	SUPERF. CM ²	NO	SI	FECHA	Nº/día o Duración (en días)	TRATAMIENTO		DÍAS TRATAMIENTO
						SINTOMÁTICO	ANTIBIÓTICO	
Dermatitis Atópica								
1-Cara								
2-Cuello								
3-Tronco								
4-Abdomen								
5-Ext. Superiores								
5-Ext. Inferiores								
Dermatitis de pañal								
Costra láctea								
INTERVENCIONES								

TOTAL PERÍODO	FIEBRE (DÍAS)	ATB. (DÍAS)	REPOSO (DÍAS)	NÚM VISITAS MÉDICAS DOMICILIARIAS	NÚM CONSULTAS MÉDICAS HOSPITALARIAS	NUM CONSULTAS URGENCIA	NÚMERO DE INGRESOS (DÍAS)
0-2 meses							

TERCERA VALORACIÓN DEL NIÑO

(6 meses)

- Datos del niño.
- Anamnesis personal.
- Vacunaciones.
- Alimentación.
- Anamnesis familiar.
- Exploración física.
- Finalización del estudio.

Fecha Visita:
Día Mes Año

DATOS DEL NIÑO

Peso: , Kg

Perímetro cefálico: cm

Talla: , cm

ANAMNESIS PERSONAL

1. ¿Asiste el niño a la guardería? Sí No

En caso de respuesta AFIRMATIVA, especificar número de días:

Fecha de inicio: / / Día Mes Año Número de días de asistencia: días

2. ¿Ha tomado algún medicamento? Sí No

En caso de respuesta AFIRMATIVA, especificar en la siguiente tabla:

Nombre comercial o principio activo	Dosis	Indicación
1.-		
2.-		
3.-		

3. ¿Ha necesitado alguna pomada o tratamiento local? Sí No

En caso de respuesta AFIRMATIVA, especificar en la siguiente tabla:

Nombre comercial o principio activo	Dosis	Indicación
1.-		
2.-		
3.-		

VACUNACIONES

D.P.T. + HIB + Polio: Sí No Meningococo C: Sí No

Hepatitis B: Sí No Neumococo: Sí No

ALIMENTACIÓN

¿Continúa el niño con la lactancia?

Sí No

En caso de respuesta NEGATIVA, especificar fecha de finalización:

Fecha finalización de la lactancia: / /
 Día Mes Año

Alimentación del niño:

Indique en la siguiente tabla el tipo de alimentación que toma el niño y la fecha de inicio:

Alimentación mixta		Fecha inicio
<input type="checkbox"/>	Cereales sin gluten / /
<input type="checkbox"/>	Cereales con gluten / /
<input type="checkbox"/>	Fruta / /
<input type="checkbox"/>	Verduras / /
<input type="checkbox"/>	Pollo / /
<input type="checkbox"/>	Ternera / /
<input type="checkbox"/>	Pescado / /
<input type="checkbox"/>	Otros-1: / /
<input type="checkbox"/>	Otros-2: / /

ANAMNESIS FAMILIAR

Los hermanos, presentan antecedentes de:

	SI	NO		SI	NO
01. Sistema cardiovascular....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	08. Sistema hematológico.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
02. Sistema nervioso central....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	09. Músculo-Esquelético.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
03. Organos de los sentidos..	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	10. Patología endocrina, metabólica o inmunitaria.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
04. Piel y tejido subcutáneo...	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	11. Neoplasias (especificar tipo).....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
05. Aparato respiratorio.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	12. Hábitos tóxicos.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
06. Aparato digestivo.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	13. Alergias	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
07. Aparato genitourinario.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	14. Otros	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Nº	Descripción de Patología	Fecha inicio	Fecha fin
	 / / / /
	 / / / /
	 / / / /
	 / / / /
	 / / / /
	 / / / /
	 / / / /

EXPLORACIÓN FÍSICA

	SI	NO	
¿ Se ha realizado la exploración física?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Si se ha realizado la exploración, evalúe los resultado siguientes:			
	Normal	Anormal	No realiz. Especificar en caso de anomalidad:
01. Aspecto general	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
02. Estado nutritivo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
03. Piel y mucosas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
04. Cabeza	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
05. Cuello	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
06. Ojos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
07. Agudeza visual	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
08. O.R.L.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
09. Agudeza auditiva	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10. Tórax	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11. Cardiovascular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12. Respiratorio	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13. Abdomen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
14. Genitales	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15. Chorro miccional	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
16. Músculo-Esquelético	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17. Locomotor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17.1. Columna	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17.2. Caderas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17.3. Extremidades	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17.4. Pies	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
18. Neurológico	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

FINALIZACIÓN DEL ESTUDIO

¿ Ha abandonado o se ha retirado la paciente del estudio ? Sí No

**En caso afirmativo por favor, remítase al formulario de FINALIZACIÓN DEL ESTUDIO.
Remítase a la página 58.**

Firma del investigador:

Fecha:
 Día Mes Año

INFECCIONES	NO	SI	FECHA	Nº /día o Duración (en días)	TRATAMIENTO		DÍAS TRATAMIENTO
					SINTOMÁTICO	ANTIBIÓTICO	
VÍAS ALTAS:							
• Otitis externa							
• Otitis media							
• Rinitis/ Adenoiditis							
• Faringitis/Amigdalitis							
• Laringitis							
VÍAS BAJAS							
• Bronquitis							
• Neumonía							
• Bronquiolitis							
GASTROINTESTINALES							
• Mughet "hollin"							
• Regurgitaciones/Vómitos							
• Diarrea aguda							
1-Nº deposiciones/día							
2-Duración (en días)							
• Cólicos							
• Estreñimiento							
1-Nº deposiciones/día							
OTRAS							
• Alergias							
• Infección urinaria							

INFECCIONES	SUPERF. CM ²	NO	SI	FECHA	Nº/día o Duración (en días)	TRATAMIENTO		DÍAS TRATAMIENTO
						SINTOMÁTICO	ANTIBIÓTICO	
Dermatitis Atópica								
1-Cara								
2-Cuello								
3-Tronco								
4-Abdomen								
5-Ext. Superiores								
5-Ext. Inferiores								
Dermatitis de pañal								
Costra láctea								
INTERVENCIONES								

TOTAL PERÍODO	FIEBRE (DÍAS)	ATB. (DÍAS)	REPOSO (DÍAS)	NUM VISITAS MÉDICAS DOMICILIARIAS	NUM CONSULTAS MÉDICAS HOSPITALARIAS	NUM CONSULTAS URGENCIA	NUMERO DE INGRESOS (DÍAS)
2-6 meses							

ANEXO IV

(DIARIO DE LA MADRE – DIARIO DEL NIÑO)

DIARIO DE LA MADRE

Código de la Paciente: _ _ _

Iniciales de la Paciente: _ _ _

Fecha de la 1ª Visita: ___/___/___ **Próxima Visita:** ___/___/___

Fecha de la 2ª Visita: ___/___/___ **Próxima Visita:** ___/___/___

Fecha de la 3ª Visita: ___/___/___

Hospital Materno Infantil de Gran Canaria

Para cualquier consulta, diríjase a Dña. Adriana Ortiz Tel: _____

Dr. _____ **Tel:** _____

IMPORTANTE

1. Consumo de Actimel:

Completar cada casilla **SI** cuando tome Actimel, **NO** cuando olvide alguna toma.

2. Fiebre:

Se considera febrícula entre 37 y 38°C y fiebre aquellas temperaturas superiores a 38°C. Se realizará la toma de la temperatura a nivel axilar. Anote en el Diario cuando padezca de **fiebre** o **febrícula**.

3. Malestar o Enfermedad:

Completar este apartado si sufre algún malestar como dolor de cabeza, o alguna enfermedad como infección, gripe, mastitis, etc, durante el desarrollo del estudio.

4. Medicamentos:

Indicar si toma algún medicamento, el nombre del mismo y cada cuantas horas lo toma.

5. Comentarios:

En este apartado podrá mencionar cualquier acontecimiento que no sea habitual, que pueda influir en su estado de salud y en el de su hijo y que Usted considere importante, como así también modificaciones en su alimentación, si omite alguna comida o si hace comidas fuera de casa.

CONSUMO DE ACTIMEL. DESDE: __/__/2.00_ HASTA: __/__/2.00_.

DÍA	ACTIMEL (3 al día)			Fiebre o Febrícula	Malestar o Enfermedad	Medicamentos		Comentarios
	Nº1	Nº2	Nº3			Nombre	Dosis	
DIA 1	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 2	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 3	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 4	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 5	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 6	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 7	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 8	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 9	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 10	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				

CONSUMO DE ACTIMEL. DESDE: __/__/2.00_ HASTA: __/__/2.00_.

DÍA	ACTIMEL (3 al día)			Fiebre o Febrícula	Malestar o Enfermedad	Medicamentos		Comentarios
	Nº1	Nº2	Nº3			Nombre	Dosis	
DIA 11	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 12	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 13	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 14	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 15	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 16	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 17	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 18	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 19	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 20	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				

CONSUMO DE ACTIMEL. DESDE: __/__/2.00_ HASTA: __/__/2.00_.

DÍA	ACTIMEL (3 al día)			Fiebre o Febrícula	Malestar o Enfermedad	Medicamentos		Comentarios
	Nº1	Nº2	Nº3			Nombre	Dosis	
DIA 21	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 22	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 23	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 24	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 25	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 26	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 27	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 28	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 29	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 30	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				

CONSUMO DE ACTIMEL. DESDE: __/__/2.00_ HASTA: __/__/2.00_.

DÍA	ACTIMEL (3 al día)			Fiebre o Febrícula	Malestar o Enfermedad	Medicamentos		Comentarios
	Nº1	Nº2	Nº3			Nombre	Dosis	
DIA 31	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 32	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 33	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 34	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 35	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 36	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 37	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 38	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 39	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 40	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				

CONSUMO DE ACTIMEL. DESDE: __/__/2.00_ HASTA: __/__/2.00_.

DÍA	ACTIMEL (3 al día)			Fiebre o Febrícula	Malestar o Enfermedad	Medicamentos		Comentarios
	Nº1	Nº2	Nº3			Nombre	Dosis	
DIA 41	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				
DIA 42	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>				

Otros Comentarios:

DIARIO DEL NIÑO/A

Código de la Paciente: _ _ _

Iniciales de la Paciente: _ _ _

Visita 1ª: ___/___/___ **Próxima Visita:** ___/___/___

Visita 2ª: ___/___/___ **Próxima Visita:** ___/___/___

Visita 3ª: ___/___/___

Hospital Materno Infantil de Gran Canaria

Para cualquier consulta, diríjase a Dña. Adriana Ortiz Tel: _____

Dr: _____ **Tel:** _____

IMPORTANTE

1. Fiebre:

¿Cuándo tomar la temperatura?

En los casos que su niño se muestre decaído, duerma más de lo acostumbrado y en general cuando le parezca que no se siente bien.

Los neonatos pueden tener una temperatura axilar de 33-36°C. Solamente después de una semana, la temperatura axilar se estabiliza en 36°C.

Se consideran normales los valores comprendidos entre 35 y 37°C, definiendo febrícula entre 37 y 38 y fiebre aquellas temperaturas superiores a 38°C.

Tome de forma habitual la temperatura a los niños menores de seis años, poniendo el termómetro en la axila o en la ingle, colocando el brazo o la pierna a lo largo del cuerpo del niño y sujetando el brazo o pierna contra el termómetro durante 3 minutos.

Anote en el Diario cuando el bebé padezca de **fiebre o febrícula**.

2. Alimentación:

Complete la casilla de Alimentación cuando introduzca alimentos nuevos en la dieta del bebé. Indicar también si deja de dar leche materna.

3. Número de deposiciones:

Durante las primeras 24 a 48 horas, las deposiciones suelen ser negras y espesas (se llama meconio), los días siguientes se van haciendo verde-amarillentas (se llaman deposiciones de tránsito), en días posteriores se hacen amarillas.

En este apartado deberá anotar el número de deposiciones de su bebé, tenga en cuenta que cuando **el niño se alimenta con leche materna lo normal es que tenga hasta 2 deposiciones por día**.

En el apartado de comentarios podrá destacar también cuando el color y la consistencia de las deposiciones no son habituales. Es normal que el recién nacido haga cacas amarillas y semilíquidas al mamar.

Estreñimiento

- Dos o menos deposiciones por semana.
- Defecación con esfuerzo, superior al 25% del tiempo.
- Deposiciones duras o caprinas, superior al 25% del tiempo.
- Sensación de evacuación incompleta, superior al 25% del tiempo.

Si se cumplen **2 o más** de algunas de las condiciones mencionadas, decimos entonces que el bebe sufre **estreñimiento**.

4. Cólicos:

Anotar si el bebé padece de cólicos. ¿Qué entendemos por **cólicos**?

Decimos que el bebé sufre cólicos, cuando observamos **llanto y nerviosismo** más de **2 horas y media por día** al menos **3 días a la semana**.

5. Malestar o Enfermedad:

Indicar si el niño ha perdido peso, si está decaído, molesto o con **vómitos**: se considera normal la expulsión de leche tras la alimentación, coincidiendo con la expulsión de aire, que suele ser de poca cantidad y con escasa fuerza denominándose **regurgitaciones**.

Indicar si su hijo tiene alguna de estas patologías:

- Otitis externa, Otitis media
- Rinitis/Adenoiditis
- Faringitis/Amigdalitis
- Laringitis
- Bronquitis, Neumonía, Bronquiolitis
- Muguet “hollin”
- Alergia
- Infección urinaria
- Dermatitis en cara, cuello, tronco, abdomen, extremidades superiores o extremidades inferiores.

- Dermatitis de pañal
- Costra láctea
- Tos
- Catarro
- Gripe
- Ictericia
- Diarrea
- Asma
- Conjuntivitis
- Otra patología que no esté en este listado.

6. Medicamentos:

Indicar si el niño ha tomado algún medicamento, el nombre del mismo y cada cuantas horas lo ha tomado.

7. Visita Médica:

Indicar si su bebé ha realizado una revisión médica, especificar si ha sido una consulta domiciliaria, en el hospital o en urgencias.

8. Reposo:

Si su hijo permanece en cama por prescripción médica o porque se encuentra decaído y molesto.

9. Comentarios:

En este apartado podrá mencionar si ese día el bebé ha recibido alguna vacuna, si ha tenido problemas para dormir, si ha estado más tranquilo o más activo de lo normal, si ha sido ingresado, si ha sufrido alguna intervención, o cualquier acontecimiento que no sea habitual en su hijo y que Usted considere importante.

SEGUIMIENTO DEL PRIMER MES. FECHA: DESDE: __/__/200_ HASTA: __/__/200_.

DIA	Fiebre o Febrícula	Alimentación	Núm. Depositiones	Cólicos	Malestar o enfermedad	Medicamentos		Visita médica	Reposo	Comentarios
						Nombre	Dosis			
DIA 1	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 2	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 3	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 4	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 5	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 6	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 7	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 8	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 9	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 10	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 11	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 12	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 13	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 14	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 15	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	

SEGUIMIENTO DEL PRIMER MES.

DIA	Fiebre o Febrícula	Alimentación	Núm. Depositiones	Cólicos	Malestar o enfermedad	Medicamentos		Visita médica	Reposo	Comentarios
						Nombre	Dosis			
DIA 16	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 17	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 18	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 19	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 20	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 21	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 22	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 23	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 24	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 25	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 26	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 27	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 28	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 29	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 30	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 31	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	

SEGUIMIENTO DEL SEGUNDO MES. FECHA: DESDE: __/__/200_ HASTA: __/__/200_.

DIA	Fiebre o Febrícula	Alimentación	Núm. Depositiones	Cólicos	Malestar o enfermedad	Medicamentos		Visita médica	Reposo	Comentarios
						Nombre	Dosis			
DIA 1	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 2	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 3	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 4	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 5	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 6	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 7	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 8	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 9	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 10	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 11	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 12	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 13	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 14	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 15	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	

SEGUIMIENTO DEL SEGUNDO MES.

DIA	Fiebre o Febrícula	Alimentación	Núm. Depositiones	Cólicos	Malestar o enfermedad	Medicamentos		Visita médica	Reposo	Comentarios
						Nombre	Dosis			
DIA 16	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 17	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 18	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 19	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 20	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 21	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 22	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 23	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 24	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 25	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 26	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 27	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 28	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 29	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 30	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 31	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	

SEGUIMIENTO DEL TERCER MES. FECHA: DESDE: __ / __ / 200__ HASTA: __ / __ / 200__.

DIA	Fiebre o Febrícula	Alimentación	Núm. Depositiones	Cólicos	Malestar o enfermedad	Medicamentos		Visita médica	Reposo	Comentarios
						Nombre	Dosis			
DIA 1	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 2	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 3	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 4	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 5	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 6	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 7	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 8	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 9	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 10	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 11	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 12	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 13	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 14	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 15	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	

SEGUIMIENTO DEL TERCER MES.

DIA	Fiebre o Febrícula	Alimentación	Núm. Depositiones	Cólicos	Malestar o enfermedad	Medicamentos		Visita médica	Reposo	Comentarios
						Nombre	Dosis			
DIA 16	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 17	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 18	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 19	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 20	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 21	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 22	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 23	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 24	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 25	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 26	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 27	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 28	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 29	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 30	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 31	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	

SEGUIMIENTO DEL CUARTO MES. FECHA: DESDE: __/__/200_ HASTA: __/__/200_.

DIA	Fiebre o Febrícula	Alimentación	Núm. Depositiones	Cólicos	Malestar o enfermedad	Medicamentos		Visita médica	Reposo	Comentarios
						Nombre	Dosis			
DIA 1	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 2	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 3	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 4	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 5	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 6	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 7	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 8	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 9	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 10	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 11	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 12	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 13	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 14	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 15	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	

SEGUIMIENTO DEL CUARTO MES.

DIA	Fiebre o Febrícula	Alimentación	Núm. Depositiones	Cólicos	Malestar o enfermedad	Medicamentos		Visita médica	Reposo	Comentarios
						Nombre	Dosis			
DIA 16	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 17	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 18	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 19	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 20	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 21	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 22	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 23	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 24	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 25	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 26	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 27	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 28	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 29	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 30	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 31	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	

SEGUIMIENTO DEL QUINTO MES. FECHA: DESDE: __/__/200_ HASTA: __/__/200_.

DIA	Fiebre o Febrícula	Alimentación	Núm. Depositiones	Cólicos	Malestar o enfermedad	Medicamentos		Visita médica	Reposo	Comentarios
						Nombre	Dosis			
DIA 1	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 2	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 3	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 4	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 5	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 6	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 7	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 8	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 9	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 10	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 11	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 12	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 13	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 14	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 15	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	

SEGUIMIENTO DEL QUINTO MES.

DIA	Fiebre o Febrícula	Alimentación	Núm. Depositiones	Cólicos	Malestar o enfermedad	Medicamentos		Visita médica	Reposo	Comentarios
						Nombre	Dosis			
DIA 16	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 17	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 18	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 19	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 20	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 21	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 22	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 23	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 24	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 25	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 26	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 27	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 28	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 29	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 30	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 31	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	

SEGUIMIENTO DEL SEXTO MES. FECHA: DESDE: __/__/200_ HASTA: __/__/200_.

DIA	Fiebre o Febrícula	Alimentación	Núm. Depositiones	Cólicos	Malestar o enfermedad	Medicamentos		Visita médica	Reposo	Comentarios
						Nombre	Dosis			
DIA 1	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 2	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 3	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 4	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 5	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 6	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 7	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 8	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 9	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 10	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 11	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 12	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 13	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 14	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 15	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	

SEGUIMIENTO DEL SEXTO MES.

DIA	Fiebre o Febrícula	Alimentación	Núm. Depositiones	Cólicos	Malestar o enfermedad	Medicamentos		Visita médica	Reposo	Comentarios
						Nombre	Dosis			
DIA 16	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 17	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 18	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 19	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 20	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 21	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 22	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 23	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 24	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 25	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 26	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 27	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 28	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 29	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 30	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
DIA 31	Fiebre <input type="checkbox"/> Febrícula <input type="checkbox"/>			Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					Si No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	

ANEXO V

(TABLA DE ALIMENTOS EN RACIONES ESTÁNDARES)

RACIONES ESTÁNDARES EN GRAMOS Y MILILITROS

nº	alimentos	g / ml	nº	alimentos	g / ml
1	Pan blanco	50	42	Leche con grasa vegetal	225
2	Pan integral	50	43	Flan o natillas	110
3	Pasta	80	44	Yogur natural	125
4	Arroz	80	45	Yogur fruta	125
5	Cereales dulces	30	46	Yogur desnatado	125
6	Gofio de trigo	35	47	Yogur grasa vegetal	125
7	Gofio de millo	35	48	Nata o crema de leche	15
8	Papas sancochadas	100	49	Queso tierno o fresco	120
9	Papas fritas	100	50	Queso semiseco	60
10	Legumbres	90	51	Queso seco	40
11	Carne vacuno	120	52	Mantequilla	12
12	Carne porcino	120	53	Margarina	12
13	Jamón (cocido o serrano)	40	54	Aceite de oliva	10
14	Embutidos (chorizo, salchichón, etc)	40	55	Aceite de girasol o soja	10
15	Hígado	120	56	Aceite de maíz	10
16	Otras vísceras	120	57	Mayonesa	17
17	Carne ave/conejo	120	58	Aceitunas	35
18	Carne de cordero, cabra, cabrito	120	59	Tocino o manteca de cerdo	17
19	Huevo	60	60	Ketchup o mostaza	17
20	Pescado blanco	150	61	Sal	3
21	Pescado azul	120	62	Frutos secos	27
22	Pulpo, calamar, choco	120	63	Azúcar	7
23	Marisco	65	64	Miel	10
24	Manzana	200	65	Bollería	50
25	Aguacate	200	66	Dulces y pasteles	115
26	Naranja, 2 mandarinas, 2 kiwis	190	67	Galletas	33
27	Plátano	135	68	Caramelos y golosinas	5
28	Papayo, mando	175	69	Chocolate	20
29	Zumo de frutas naturales	175	70	Bebidas refrescantes con gas	200
30	Mermeladas, confituras	40	71	Bebidas refrescantes sin gas	200
31	Potaje de verduras, caldo de papas	225	72	Café	45
32	Lechuga o ensalada	200	73	Té u otras infusiones	125
33	Verdura sancochada	175	74	Cerveza	200
34	Tomate crudo	200	75	Vino de mesa, champagne, cava	100
35	Tomate guisado	25	76	Chupito de melocotón, manzana...	45
36	Cebolla o pimientos crudos	175	77	Licor o brandy	50
37	Cebolla o pimientos guisados	90	78	Vodka o aguardiente	45
38	Otras hortalizas (crudas o guisadas)	150	79	Agua del grifo	200
39	Leche entera	225	80	Agua mineral sin gas	200
40	Leche semidesnatada	225	81	Agua mineral con gas	200
41	Leche desnatada	225			

ANEXO VI

(PUBLICACIONES)

Alimentos funcionales en nutrición comunitaria: aplicaciones durante
el puerperio y la lactancia.

Publicado en: Alimentación Nutrición y Salud

2006;13(1):23-28

Alimentos funcionales en nutrición comunitaria: aplicaciones durante el puerperio y la lactancia

A. Ortiz-Andrellucchi, L. Serra-Majem

GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN NUTRICIÓN. DEPARTAMENTO DE CIENCIAS CLÍNICAS.
UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA. SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NUTRICIÓN
COMUNITARIA (SENC). LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

RESUMEN

Los alimentos funcionales, consumidos como parte de una dieta equilibrada y acompañados de un estilo de vida saludable, ofrecen la posibilidad de mejorar la salud y/o prevenir ciertas enfermedades.

En tal sentido, es prioritaria la aprobación de un marco regulador dentro de la UE para proteger a los consumidores, fomentar el comercio justo y potenciar la innovación de productos dentro de la industria alimentaria. Es también vital comunicar a los consumidores los beneficios que suponen para su salud, de manera que estén bien informados para poder escoger mejor los alimentos que consumen.

En el caso de los probióticos, y su aplicación durante el puerperio y la lactancia, existen evidencias que indican que pueden influenciar positivamente el proceso de maduración de la inmunidad intestinal del niño y ponen de manifiesto también un potencial efecto preventivo de los probióticos frente a las atopias.

Palabras claves: Alimentos funcionales. Nutrición comunitaria. Salud pública. Probióticos. Puerperio. Lactancia.

ABSTRACT

The functional foods, along with a balanced diet and a healthy life style, offer the possibility to improve health and to prevent certain diseases.

Thus, the approval of a regulating frame within the UE to protect the consumers, to promote fair trade and to strengthen the product innovation within the food industry is considered a high priority.

In addition, consumers need to be informed on the health benefits of the functional foods, to make them able to choose appropriately their own diets.

There are several evidences indicating the favorable role of probiotics and their use during puerperium and breastfeeding on the maturation process of the child intestinal immunity. A potential preventive effect in the atopia has also been suggested.

Key words: Functional foods. Community nutrition. Health public. Probiotics. Puerperium. Breastfeeding.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se ha observado un notable desarrollo de la nutrición comunitaria, entendida como aquella área de la nutrición que trasciende a la comunidad, aplicada dentro del contexto de la salud pública y que estudia e intenta plantear soluciones a los problemas nutricionales que la población presenta, actuando como herramienta de promoción de la salud (1).

La dieta y la nutrición son muy importantes para promover y mantener la buena salud a lo largo de toda la vida. Está bien establecida su función como factor determinante de enfermedades no transmisibles o crónicas, y ello la convierte en componente fundamental de las actividades de prevención (2). La segunda mitad del siglo XX se caracterizó por profundos cambios de las dietas y los estilos de vida, que a su vez han contribuido al incremento de algunas enfermedades no transmisibles (3). La rapidez

de estos cambios, junto con la creciente carga de morbilidad, está creando una importante amenaza para la salud pública que exige medidas inmediatas y eficaces.

En cuanto al sobrepeso y la obesidad, no sólo la prevalencia actual ha alcanzado niveles sin precedentes, sino que la tasa de aumento anual es sustancial en la mayoría de las regiones en desarrollo (4). Los países mediterráneos han abandonado sus hábitos y costumbres tradicionales, siendo estos cambios más dramáticos en niños y adolescentes. Los niños y adolescentes españoles presentan consumos altos de cereales refinados, lácteos, carne, salchichas y embutidos; productos de panadería tales como bollos, tortas y galletas, *snacks* dulces o salados y bebidas azucaradas (5). La combinación de este patrón alimentario unido a un estilo de vida sedentario ha contribuido a un aumento importante en la prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños y adolescentes. La prevalencia de obesidad en niños españoles ha aumentado del 6,4% en 1984 a 13,9% de 2000 (6). Por todo esto, es necesario plantear estrategias preventivas que pongan énfasis en la dieta y la actividad física.

DEMANDAS DEL CONSUMIDOR

La elección de alimentos, como cualquier comportamiento humano complejo, está influida por muchos factores interrelacionados. Lo que nos lleva a comer o dejar de comer es, sin duda, el hambre y la saciedad, pero lo que elegimos comer no está determinado sólo por las necesidades nutricionales o fisiológicas. Otros factores que condicionan nuestra elección son:

—Propiedades organolépticas de los alimentos como el sabor, el olor o el aspecto.

—Factores cognitivos, emocionales y sociales —lo que gusta y lo que no, el conocimiento y las actitudes relacionados con la salud y la dieta, y el contexto social o los hábitos— condicionan nuestra elección a la hora de comer.

—Valores personales, circunstancias vitales (como el hecho de estar casado o convivir con alguien), o habilidades (por ejemplo, saber cocinar), creencias en asuntos como los productos orgánicos, los modificados genéticamente, que sean seguros, que proporcionen un aporte nutricional adecuado, que tengan efecto beneficioso para la salud demostrado científicamente pueden ser especialmente importantes para algunos individuos.

—Factores económicos, culturales y religiosos también restringen nuestra elección. Los precios de los productos desempeñan un papel relevante en nuestra elección.

El interés que despierta en los consumidores la relación entre la dieta y la salud, aumenta la demanda

de información sobre los alimentos funcionales. Al mismo tiempo, la confusión de los consumidores es grande en el actual entorno multimediático de ritmo imparable.

ALIMENTOS FUNCIONALES

Aún no existe una definición universal para los alimentos funcionales porque se trata más de un concepto que de un grupo de alimentos. A grandes rasgos pueden considerarse alimentos funcionales aquellos que proporcionan un efecto beneficioso para la salud, además de sus contenidos de nutrición básica.

En Europa, en 1999 se elaboró un primer documento de consenso sobre conceptos científicos en relación con estos alimentos. En este documento el *International Life Science Institute* (ILSI) estableció que un “alimento funcional es aquel que contiene un componente, nutriente o no nutriente, con efecto selectivo sobre una o varias funciones del organismo, con un efecto añadido por encima de su valor nutricional y cuyos efectos positivos justifican que pueda reivindicarse su carácter funcional o incluso saludable”.

Los alimentos funcionales como tal, tienen que tener unas características determinadas (7):

—Tienen que ser alimentos que se manipulen para conseguir algún beneficio extra, por eliminación, reducción o adición de algún componente.

—Los alimentos funcionales son básicamente alimentos “clásicos” pero llevan incorporados nuevos componentes alimentarios o no alimentarios, siempre que tengan un claro efecto beneficioso.

—La base de la alimentación es una alimentación completa y variada. Los alimentos funcionales complementan la función nutritiva y la prevención de ciertas enfermedades. Hay que tener en cuenta que las cantidades deben ser las normalmente consumidas en la dieta.

—La presentación de un alimento funcional tiene que ser como la de un alimento, sin modificar sus características. Nunca deben presentarse en forma de cápsulas o comprimidos.

Un alimento funcional puede ser un alimento natural, un alimento al que se añade un componente, o un alimento al que se le ha quitado un componente mediante medios tecnológicos o biológicos. También puede tratarse de un alimento en el que se ha modificado la naturaleza de uno o más de sus componentes, o en el que se ha modificado la biodisponibilidad de uno o más de sus componentes, o cualquier combinación de estas posibilidades.

Los alimentos funcionales tienen como objetivo modificar o potenciar las “propiedades saludables”

de alguno de sus componentes. Según el concepto tradicional de nutrición, la principal función de la dieta es aportar los nutrientes necesarios para el buen funcionamiento del organismo. Este concepto de “nutrición adecuada” se está sustituyendo por el concepto de “nutrición óptima”, que se trata de aquella que además, contempla la posibilidad de que algunos alimentos mejoren nuestra salud y contribuyan a prevenir determinadas enfermedades (8,9).

Precisamente por este planteamiento aparecen los alimentos funcionales, cuyo desarrollo se basa en la relación entre dieta y salud. Se ha demostrado que existe una gran variedad de micro-componentes de la dieta que pueden influir en la capacidad de un individuo para alcanzar todo su potencial genético y minimizar el riesgo de enfermar. La respuesta del organismo ante el consumo de un alimento funcional depende de diversos factores incluyendo los genéticos, el estado fisiológico y la composición de la dieta completa. Un alimento funcional puede ir diri-

gido a toda la población o a grupos concretos como los referidos a la edad, constitución genética o situación fisiológica.

La tabla I describe algunos ejemplos de alimentos funcionales, sus características y la evidencia científica sobre su papel en la salud.

REGULACIÓN DE LAS ALEGACIONES DE SALUD

Para que los alimentos funcionales puedan aportar todos los beneficios posibles para la salud pública, los consumidores tienen que comprender bien y confiar en los criterios científicos utilizados para documentar sus efectos y atribuciones beneficiosas. En tal sentido, es necesario un marco regulador que proteja a los consumidores de las atribuciones de propiedades falsas o confusas, y que además pudie-

TABLA I
EJEMPLOS DE ALIMENTOS FUNCIONALES

<i>Clase/componente</i>	<i>Origen</i>	<i>Beneficio potencial</i>
<i>Carotenoides</i>		
Beta caroteno	Zanahoria, frutas	Neutraliza los radicales libres que podrían dañar las células
Luteína	Vegetales verdes (col, acelga, espinaca), maíz, huevos, cítricos	Puede contribuir al mantenimiento de una visión saludable
Lycopeno	Tomate y productos derivados del tomate	Podría reducir el riesgo de cáncer de próstata
<i>Fibras dietéticas</i>		
Fibra insoluble	Cáscara de trigo	Podría reducir el riesgo de cáncer de colon
Beta glucano	Avena	Reduce el riesgo de enfermedad cardiovascular
<i>Ácidos grasos</i>		
Omega 3, ácido graso DHA	Aceites de peces	Podrían reducir el riesgo de enf. cardiovascular y mejorar funciones mentales y visuales
Ácido linoleico	Queso, productos cárnicos	Podrían mejorar la composición corporal, podrían reducir el riesgo de ciertos tipos de cáncer
<i>Flavonoides</i>		
Catequinas	Té	Neutraliza radicales libres, podría reducir el riesgo de cáncer
Flavonas	Cítricos	Neutraliza radicales libres, podría reducir el riesgo de cáncer
<i>Esteroles vegetales</i>		
Ester estanol	Maíz, soja, trigo	Reduce los niveles de colesterol sanguíneo, por lo tanto reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares
<i>Prebióticos/probióticos</i>		
Inulina, fructooligosacáridos (FOS), povidextrona	Ajo, miel, achicoria, cebolla, puerro	Podría mejorar la salud gastrointestinal, pueden mejorar la absorción de calcio
Lactobacilos, bifidobacterias	Yogur, productos lácteos	Podría mejorar la salud gastrointestinal y la inmunidad sistémica
<i>Fitoestrógenos</i>		
Isoflavonas	Alimentos con soja	Podrían reducir los síntomas de la menopausia

ra responder a las necesidades de la industria en cuanto a innovación en el desarrollo de productos, su comercialización y su promoción.

Japón está por delante del resto del mundo en este aspecto. En 1991, se estableció el concepto de “Alimentos para Uso Específico en la Salud” (*Foods for Specified Health Use*, FOSHU) (10). Los alimentos que se incluyan dentro de la categoría de FOSHU deben ser autorizados por el ministro de Salud, tras la presentación de pruebas exhaustivas con fundamento científico, que apoyen la alegación relativa a las propiedades de dichos alimentos, cuando son consumidos como parte de una dieta ordinaria.

En la Unión Europea, la propuesta de reglamento comunitario, presentada por la Comisión Europea a mediados del 2003 (2003/0165(COD)) y todavía pendiente de aprobación, pretende proteger adecuadamente los derechos fundamentales del consumidor y otorgar seguridad jurídica a las empresas alimentarias sobre las alegaciones a utilizar en el etiquetado, presentación y publicidad de los productos (7). En tal sentido, las alegaciones de salud deben estar adecuadamente corroboradas para proteger al consumidor, fomentar el comercio justo y potenciar las investigaciones y la innovación en la industria alimentaria.

Debido al creciente interés en el concepto de los “Alimentos Funcionales” y en las “Alegaciones de Salud”, la Unión Europea ha creado una Comisión Europea de Acción Concertada sobre Bromatología Funcional en Europa (*Functional Food Science in Europe*, FUFOSÉ) (11). El programa ha sido coordinado por el Instituto Internacional de Ciencias Biológicas (*International Life Sciences Institute –ILSI– Europe*) y su objetivo es desarrollar y establecer un enfoque científico sobre las pruebas que se necesitan para respaldar el desarrollo de productos alimenticios que puedan tener un efecto beneficioso sobre una función fisiológica del cuerpo y mejorar el estado de salud y bienestar de un individuo y/o reducir el riesgo de que desarrolle enfermedades.

La acción concertada de la UE apoya el desarrollo de dos tipos de alegaciones de salud con respecto a los alimentos funcionales (12), que deben ser siempre válidas en el contexto de la dieta global y estar asociadas a los alimentos que se consumen normalmente:

1. *Tipo A*: alegaciones de “funcionales de mejora” asociadas a determinadas funciones fisiológicas y psicológicas y a actividades biológicas que van más allá de su papel establecido en el crecimiento, el desarrollo y otras funciones normales del cuerpo. Este tipo de alegación no hace referencia a enfermedades o estados patológicos (p. ej. algunos oligosacáridos no digeribles mejoran el crecimiento de la flora bacteriana intestinal; la cafeína puede mejorar el rendimiento cognitivo).

2. *Tipo B*: alegaciones de “reducción de riesgo de enfermedades”, que se asocian al consumo de un

alimento o de sus componentes para ayudar a reducir el riesgo de padecer una determinada enfermedad o afección, gracias a los nutrientes específicos que contenga o no dicho alimento (p. ej. los folatos pueden reducir el riesgo de que una mujer tenga un hijo con defectos del tubo neural, y una ingesta adecuada de calcio puede ayudar a reducir el riesgo posterior de osteoporosis).

Para poner en práctica las conclusiones y principios del programa FUFOSÉ, se creó un nuevo programa de Acción Concertada de la Comisión Europea, el Proceso para la Valoración de Soporte Científico de las Alegaciones con respecto a los Alimentos “*Process for the Assessment of Scientific Support for Claims on Foods*”, (PASSCLAIM) (13), que tiene como objetivo resolver los temas relativos a validación y verificación científica de alegaciones y la información al consumidor.

APLICACIONES DE LOS ALIMENTOS FUNCIONALES DURANTE EL PUERPERIO Y LA LACTANCIA

Dentro de los alimentos funcionales, un grupo específico de ellos, los probióticos, han sido estudiados con aplicaciones especiales durante el puerperio y la lactancia.

En tal sentido, en el año 2000 Isolauri y cols. (14) estudiaron el potencial efecto de los probióticos sobre la inflamación de tipo alérgica a temprana edad. Llevaron a cabo un estudio aleatorizado, doble ciego y controlado, trabajando con niños de una media de edad de 4,6 meses, que manifestaron eczema atópico durante el periodo de lactancia materna exclusiva. El grupo intervención fue suplementado con *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* durante 16 semanas. Se evaluó a los 2 y 6 meses, la extensión y la severidad del eczema atópico y se observó una mejora en las condiciones de la piel en los niños que consumieron suplementación con probióticos. Los resultados proporcionan la primera demostración clínica, de las modificaciones que cepas específicas de probióticos pueden producir en aspectos relacionados con la inflamación de tipo alérgica.

Rautava y cols. (15) publicaron en el 2002 un trabajo concordante con el estudio anterior. Diseñaron un ensayo aleatorizado, doble ciego con grupo control, destinado a evaluar el potencial efecto preventivo de los probióticos frente a las alergias. Se estudiaron 62 pares de madres e hijos. Las madres tenían antecedentes de atopía y fueron aleatorizados a recibir *Lactobacillus rhamnosus* o placebo durante 4 semanas anteriores al parto y durante el periodo de lactancia hasta los 3 meses del niño. El riesgo de desarrollar eczema atópico durante los primeros 2 años de la vida en los infantes de madres que reci-

bieron probióticos fue sensiblemente menor en comparación con los infantes cuyas madres recibieron placebo (el 15% y el 47%, respectivamente; riesgo relativo, 0,32 (0,12-0,85 I.C. del 95%). Este trabajo concluyó que la administración de probióticos durante embarazo y la lactancia ofrece un modo efectivo y seguro de aumentar el potencial inmunoprotector de la leche materna y proporcionar la protección contra eczema atópico durante los primeros 2 años de la vida.

En una línea diferente, Mastretta y cols. (16) intentaron determinar la eficacia del *Lactobacillus* GG y la lactancia en la prevención de las infecciones nosocomiales del rotavirus. El rotavirus es uno de los principales agentes etiológicos de las infecciones nosocomiales entre niños, por lo tanto es importante el desarrollo de medidas preventivas. La eficacia del *Lactobacillus* GG en el tratamiento de la infección del rotavirus está estudiada en la literatura, pero existe poca evidencia de su eficacia en la prevención de la infección. Para ello, efectuaron un estudio aleatorizado, doble ciego y controlado con 220 niños de 1 a 18 meses hospitalizados, los cuales recibieron *Lactobacillus* GG o placebo durante su estancia hospitalaria. Los resultados de este estudio no pueden demostrar la eficacia de *Lactobacillus* GG en la prevención de la infección nosocomial por rotavirus, mientras que la lactancia materna mostró ser más efectiva.

En 2004, Schultz M y cols. (17) publicaron un trabajo cuyo objetivo fue determinar si la administración oral de *Lactobacillus* a la mujer embarazada conduce a la colonización de la mucosa intestinal del recién nacido. El aparato gastrointestinal de un feto sano es estéril, durante el proceso del nacimiento los microbios de la madre y el ambiente colonizan el tracto gastrointestinal del recién nacido formando una compleja microflora. Las bacterias probióticas han demostrado tener una influencia beneficiosa en la inmunidad intestinal y la inmunidad sistémica, mediando de esta manera, en la protección contra las infecciones nosocomiales que afectan al recién nacido. Este trabajo demostró que la colonización temporal de la mucosa intestinal del recién nacido con *Lactobacillus* puede ser posible administrando probióticos a la madre embarazada antes del parto. La colonización es estable 6 meses.

Para evaluar el impacto de los probióticos y la lactancia materna en la microflora intestinal del niño, Rinne y cols. (18) realizaron también un ensayo doble ciego, aleatorizado y controlado, en el cual estudiaron a 96 pares de madres e hijos. Las madres aleatorizadas al grupo intervención recibieron probióticos durante las 4 semanas anteriores al parto y la intervención se mantuvo hasta los 6 meses posteriores al parto. Los resultados de este estudio sugieren que la incorporación de probióticos en la dieta de la madre antes del parto y durante la lactancia pueden influenciar positivamente el proceso de maduración de la inmunidad intestinal del niño.

CONCLUSIONES

Los alimentos funcionales, consumidos como parte de una dieta equilibrada y acompañados de un estilo de vida saludable, ofrecen la posibilidad de mejorar la salud y/o prevenir ciertas enfermedades. Es prioritaria la aprobación de un marco regulador dentro de la UE para proteger a los consumidores, fomentar el comercio justo y potenciar la innovación de productos dentro de la industria alimentaria. Es también vital comunicar a los consumidores los beneficios que suponen para su salud, de manera que estén bien informados para poder escoger mejor los alimentos que consumen. En el caso de los probióticos y su aplicación durante el puerperio y la lactancia, existe evidencia que indica que puede influenciar positivamente el proceso de maduración de la inmunidad intestinal del niño y ponen de manifiesto también un potencial efecto preventivo de los probióticos frente a las atopias.

CORRESPONDENCIA:

Adriana Ortiz Andrellucchi
Departamento de Ciencias Clínicas
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria
Apartado 550
35080 Las Palmas de Gran Canaria
Fax: 928 45 34 75
e-mail: aortiza@acciones.ulpgc.es

BIBLIOGRAFÍA

1. Serra-Majem L. Las mejores prácticas en nutrición comunitaria: Retos y Compromisos. Arch Latinoam Nutr 2004; 54: 40-3.
2. Informe sobre la salud en el mundo 2002: reducir los riesgos y promover una vida sana. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2002.
3. Reddy KS. Cardiovascular diseases in the developing countries: dimensions, determinants, dynamics and directions for public health action. Public Health Nutrition 2002; 5: 231-7.
4. Popkin BM. The shift in stages of the nutritional transition in the developing world differs from past experiences! Public Health Nutrition 2002; 5: 205-14.
5. Aranceta J. Community Nutrition. Arch Latinoam Nutr 2004; 54: 9-13.
6. Serra Majem L, Ribas Barba L, Aranceta Bartrina J, Pérez Rodríguez C, Saavedra Santana P, Peña Quintana L. Obesidad en la infancia y adolescencia en España. Resultados del Estudio Enkid (1998-2000). Med Clin (Barc) 2003; 121: 725-32.

7. Alimentos funcionales para una alimentación saludable. SENC 2005. Disponible en URL [<http://www.nutricioncomunitaria.com>] [Acceso 26 de febrero de 2006].
8. Roberfroid MB. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1660-4.
9. Roberfroid MB. An European consensus of scientific concepts of functional foods. *Nutrition* 2000; 16: 689-91.
10. Arvanitoyannis IS, Van Houwelingen-Koukaliaroglou M. Functional foods: a survey of health claims, pros and cons, and current legislation. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2005; 45: 385-404.
11. Scientific concepts of functional foods in Europe. Consensus document. *Br J Nutr* 1999; 81: 1-27.
12. Roberfroid MB. Global view on functional foods: European perspectives. *Br J Nutr* 2002; 88: 133-8.
13. Richardson DP, Affertsholt T, Asp NG, Bruce A, Grossklaus R, Howlett J, et al. PASSCLAIM - Synthesis and review of existing processes. *Eur J Nutr* 2003; 42: 96-111.
14. Isolauri E, Arvola T, Sutas Y, Moilanen E, Salminen S. Probiotics in the management of atopic eczema. *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 1604-10.
15. Rautava S, Kalliomaki M, Isolauri E. Probiotics during pregnancy and breast-feeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 119-21.
16. Mastretta E, Longo P, Laccisaglia A, Balbo L, Russo R, Mazzaccara A, et al. Effect of *Lactobacillus GG* and breast-feeding in the prevention of rotavirus nosocomial infection. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 35: 527-31.
17. Schultz M, Gottl C, Young RJ, Iwen P, Vanderhoof JA. Administration of oral probiotic bacteria to pregnant women causes temporary infantile colonization. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 38: 293-7.
18. Rinne M, Kalliomaki M, Arvilommi H, Salminen S, Isolauri E. Effect of probiotics and breastfeeding on the bifidobacterium and lactobacillus/enterococcus microbiota and humoral immune responses. *J Pediatr* 2005; 147: 186-91.

Immunomodulatory effects of the intake of fermented milk with
Lactobacillus casei DN114001 in lactating mothers and their
children.

Publicado en: British Journal of Nutrition.

2008;17:1-12

Immunomodulatory effects of the intake of fermented milk with *Lactobacillus casei* DN114001 in lactating mothers and their children

Adriana Ortiz-Andrellucchi¹, Almudena Sánchez-Villegas¹, Carlos Rodríguez-Gallego², Angelina Lemes³, Teresa Molero³, Adela Soria⁴, Luis Peña-Quintana^{1,5}, Milagrosa Santana⁵, Octavio Ramírez⁶, José García⁶, Félix Cabrera¹, José Cobo⁷ and Lluís Serra-Majem^{1*}

¹Department of Clinical Sciences, University of Las Palmas de Gran Canaria, PO Box 550, 35080-Las Palmas de Gran Canaria, Spain

²Department of Immunology, Hospital Universitario de Gran Canaria Dr Negrín, Las Palmas, Spain

³Haematology Service, Hospital Universitario de Gran Canaria Dr Negrín, Las Palmas, Spain

⁴Biochemistry Service, Hospital Universitario Insular, Las Palmas, Spain

⁵Unidad de Gastroenterología y Nutrición Infantil, Hospital Universitario Materno-Infantil de Canarias, Las Palmas, Spain

⁶Department of Obstetrics and Gynaecology, Hospital Universitario Materno-Infantil de Canarias, Las Palmas, Spain

⁷Danone S. A., Barcelona, Spain

(Received 27 June 2007 – Revised 22 January 2008 – Accepted 23 January 2008)

The healthy action of probiotics is not only due to their nutritional properties and their influence on the gastrointestinal environment, but also to their action on the immune system. The aim of the present study was to determine if 6 weeks of probiotic intake would be able to modulate the immune system in women who had recently delivered and were breast-feeding. The design consisted of a randomised, controlled and double-blind nutritional intervention study with parallel groups with a sample size of 104 women. The main variable is the T helper type 1/T helper type 2 (Th1/Th2) profile determined by measuring interferon- γ (Th1) and IL-4 (Th2) values in peripheral blood by flow cytometry. The modifications of cytokines were evaluated in maternal milk by cytometric bead array in a flow cytometer and ELISA at three stages of breast-feeding: colostrum, early milk (10 d) and mature milk (45 d). Additionally, the anthropometry and infectious and allergic episodes in the newborn were followed up throughout the first 6 months of life. After the consumption of milk fermented with *Lactobacillus casei* during the puerperium, we observed a non-significant increase in T and B lymphocytes and a significant increase in natural killer cells. A decrease in the pro-inflammatory cytokine TNF- α in maternal milk and fewer gastrointestinal disturbances were also observed in the breast-fed child of the mothers who consumed *L. casei*. The intake of milk fermented with *L. casei* during the lactation period modestly contributes to the modulation of the mother's immunological response after delivery and decreases the incidence of gastrointestinal episodes in the breast-fed child.

Probiotics: Postpartum period: Clinical trials: *Lactobacillus casei* DN114001: Human milk: Cytokines: Immune response

It is generally acknowledged that pregnancy is associated with a modification of the T helper type 1/T helper type 2 (Th1/Th2) balance toward a Th2 profile⁽¹⁾. According to this interpretation, Th1 prevalence would be associated with an increase in spontaneous abortions⁽²⁾. The data on which this interpretation is based come from three types of studies: studies carried out in peripheral blood, studies carried out in placental or endometrial tissue and experimental studies in gestational mice^(3–7).

Few data exist about the modifications of the immune response during the puerperium. In general, it has been observed that the Th1/Th2 balance^(3,8) improves during the lactation period. Moreover, a decrease in the B lymphocytes (positive CD19) has been observed during this period, having a specific connection with prolactin levels^(9,10).

The dependence on adequate nutritional status is an important aspect of the immune response during the puerperium⁽¹¹⁾.

Probiotics are considered functional foods because they exert different actions on organs and systems. In addition, their components have nutritional activity. The lactic acid bacteria are the most commonly used micro-organisms in probiotic products. The bacterial strains most used as probiotics are *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. There is ample literature on the healthy action of lactic acid bacteria and their fermentation products^(12–16). These effects are not only due to their nutritional properties and their influence on the gastrointestinal environment, but also to their action on the immune system⁽¹⁷⁾. The biological effects of *Lactobacillus casei* on the intestinal membrane and flora are diverse⁽¹⁸⁾. However, its effect on the systemic immune response has scarcely been evaluated. Depending on the methodology, the administration of this bacterium or its biological products may not be implied in the modification of the systemic immune response⁽¹⁹⁾, or could alternatively stimulate the Th1.

Abbreviations: AV, absolute variation; IFN, interferon; NK, natural killer; Tc1, cytotoxic T cell type 1; Tc2, cytotoxic T cell type 2; Th1, T helper type 1; Th2, T helper type 2; TFG, transforming growth factor.

* **Corresponding author:** Dr Lluís Serra-Majem, fax +34 928 453475, email lserra@dcc.ulpgc.es

Thus, the intrapleural administration of these bacteria induces the production of several cytokines such as interferon (IFN)- α , TNF- α and IL-1, diminishing the growth of tumours in an experimental model in mice⁽²⁰⁾. In another experimental study, the interaction of *L. casei* with mouse splenocyte cells *in vivo* and *in vitro* stimulated the Th1 response (production of IL-12 and IFN- γ)⁽²¹⁾. Moreover, it has been reported that the oral administration of *L. casei* stimulates the Th1 response, thus protecting the host against the influenza virus⁽²²⁾ or *Trichinella spiralis* nematode⁽²³⁾. Finally, in a smaller study, the oral administration of this bacterium increased the activity of the natural killer (NK) cells⁽²⁴⁾.

The present study was designed to determine if probiotic intake (milk fermented with *L. casei* DN114001) over a 6-week interval from postnatal day 3 to day 45 would be able to modulate the immune system in women who had recently delivered and were breast-feeding. In addition, the role of probiotic intake on cytokines in maternal milk and on newborn health variables was also ascertained.

Subjects and methods

Subjects

The present prospective study was based on 104 pregnant women aged 18–40 years. Sample size was estimated considering an immunological response of 90% in the intervention group and of 70% in the control group. With 5% level of significance and 80% of power, fifty-two individuals were needed in each group considering a non-participation rate of 10%. Women were included if they had good general health status and a low obstetric risk, with a normal delivery at the Hospital Universitario Materno Infantil de Canarias resulting

in the birth of a healthy baby. Subjects with pre-existing clinical conditions such as diabetes, hypertension, autoimmune diseases, asthma, allergy, renal diseases, hepatic diseases, antecedents of viral, bacterial or protozoan infection, as well as those with multiple pregnancy, high-risk pregnancy, anaemias with Hb below 10.5%, and those who smoked more than ten cigarettes per d were excluded from the study. Women completed a socio-demographic and lifestyle questionnaire. Additional, anthropometric measurements and infectious and allergic episodes in the newborn were evaluated during the first 6 months of life. The study protocol is summarised in Fig. 1. All subjects were well informed about the study and agreed to participate. The Ethics Committee of the Hospital Universitario Materno Infantil de Canarias revised and approved the study protocol. Informed consent of all participants was obtained.

The participants were randomised after delivery to receive milk fermented with *L. casei* or placebo. The culture used was *L. casei* DN-114001. The international culture collection number was American Type Culture Collection (ATCC) 334. Group assignment was carried out according to the entrance order in the study through a randomised list divided into four strata: primiparous of age 18–24 years, primiparous of age 25–40 years, multiparous of age 18–24 years or multiparous of age 25–40 years. Randomisation was performed using an allocation sequence that was computer generated by an independent firm, Biomedical Systems Group S. A. (Barcelona, Spain). The main investigator enrolled all the patients. The randomisation procedure was conducted by an external collaborator of the investigation team. All the participants were identified with an alphanumeric code. The investigators did not have access to the allocation sequence until the database was closed. Sealed envelopes for each participant were

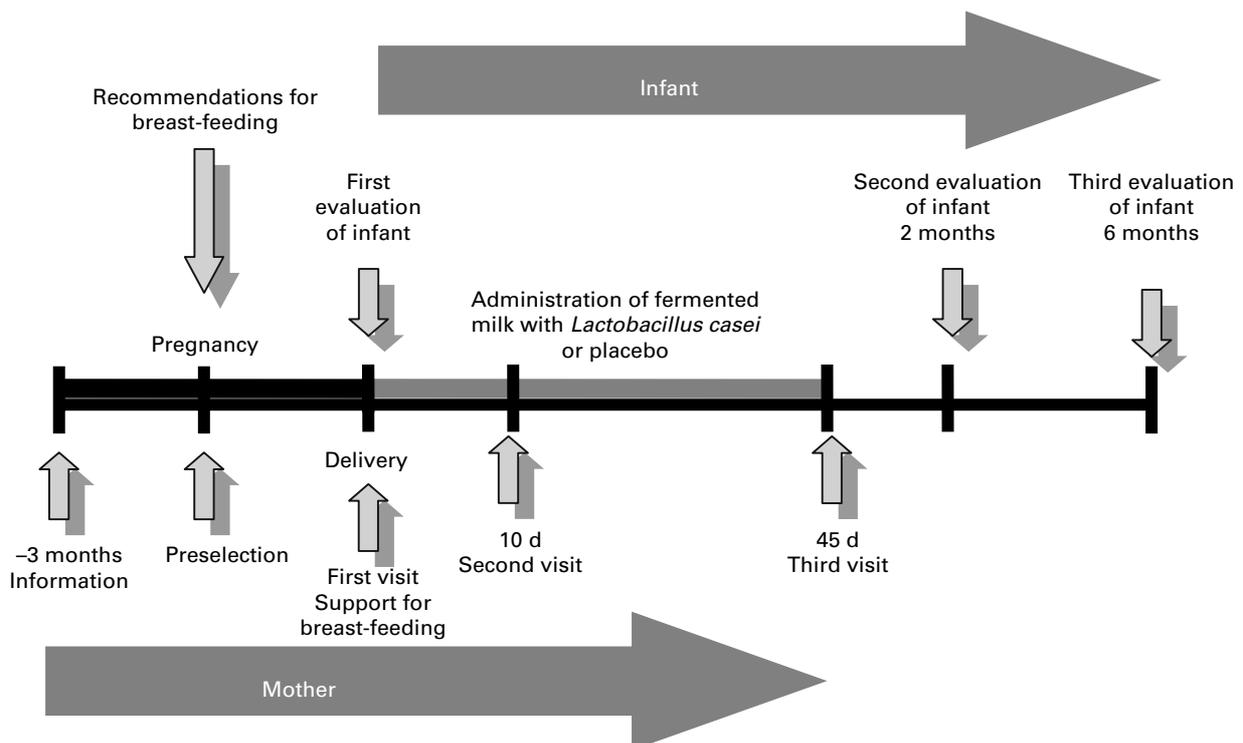


Fig. 1. Study design.

kept in case of emergency situations, but the blinding was not broken during the study follow-up. Control and intervention products presented similar sensory properties to maintain double-blind status. Therefore, the placebo is the same product used for the intervention group but subjected to a β radiation process. The dose of the radiation was 4.5 kGy. Hence, the *L. casei* was inactivated and not viable in the placebo, but the inactivated cells were retained. The administration of the study products (milk fermented with *L. casei* or placebo) consisted of consumption three times per d during 6 weeks. Initiation of the fermented milk intake occurred on the day following the first extraction of blood and breast milk samples (colostrum). A diary was given to all mothers to write down the fermented milk intake per d during the study period.

The final sample of this prospective study was based on 104 pregnant women. Forty-five received placebo and fifty-nine received fermented milk with *L. casei* DN114001. The follow-up rate was 89.4%. The main causes for non-participation during follow-up are shown in Fig. 2. Non-attendance to a visit was the only cause of a lack of infant participation.

Analyses of peripheral blood samples

Three peripheral blood samples were obtained: at 3, 10 and 45 d postpartum.

Analyses of interferon- γ and IL-4-producing T cells. The assessment of immunological parameters was carried out in the Immunology Laboratory of the Hospital Universitario Dr Negrín de Gran Canaria. Using conjugated monoclonal antibodies and a flow cytometer, we studied the changes in the immune profile of postpartum women. Peripheral blood for whole-blood activation assays was collected into sodium

heparin Vacutainer[®] tubes (Becton Dickinson, Meylan-Cedex, France). Whole-blood cultures were stimulated in Roswell Park Memorial Institute (RPMI)-1640 medium (Biocrom, Berlin, Germany) with phorbol myristate acetate (10 ng/ml; Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) and ionomycin (1 μ g/ml; Sigma Chemical Co.) in the presence of brefeldin-A (10 μ g/ml; Sigma Chemical Co.) for 4 h at 37°C in a 5% CO₂ atmosphere. The following murine conjugated monoclonal antibodies to human lymphocyte cell-surface antigens were used: CD3-PerCP, CD8-fluorescein isothiocyanate (FITC), CD45-allophycocyanin (APC), and isotypic-matched irrelevant antibodies (all from BD Biosciences, San Jose, CA, USA). Whole-blood cultures were mixed and incubated for 15 min at room temperature in the dark with the indicated monoclonal antibodies. For fixation and permeabilisation, the Fix & Perm reagent (FIX & PERM[®] Cell Permeabilization Kit; Caltag, Burlingame, CA, USA) was used according to the manufacturer's protocols. For intracellular labelling of cytokines, Anti-human IFN- γ -phycoerythrin (PE), Anti-human IL-4-PE and PE-labelled isotypic-matched irrelevant antibodies (BD Biosciences, San Jose, CA, USA) were used. Cell fluorescence was analysed in a FACSCalibur[®] flow cytometer (BD Biosciences). Lymphocytes were gated by forward and side scatter and pan-leucocyte (CD45; BD Biosciences) marker expression, and at least 20 000 events were analysed. The collected data were analysed using CellQuest Macintosh software (Apple Computer, Inc., Cupertino, CA, USA) and presented as percentages.

Determining the percentage of IFN- γ - and IL-4-producing T cells was carried out by gating on CD3⁺CD8⁺ and CD3⁺CD8⁻ lymphocytes. The Th1/Th2 cell ratio was

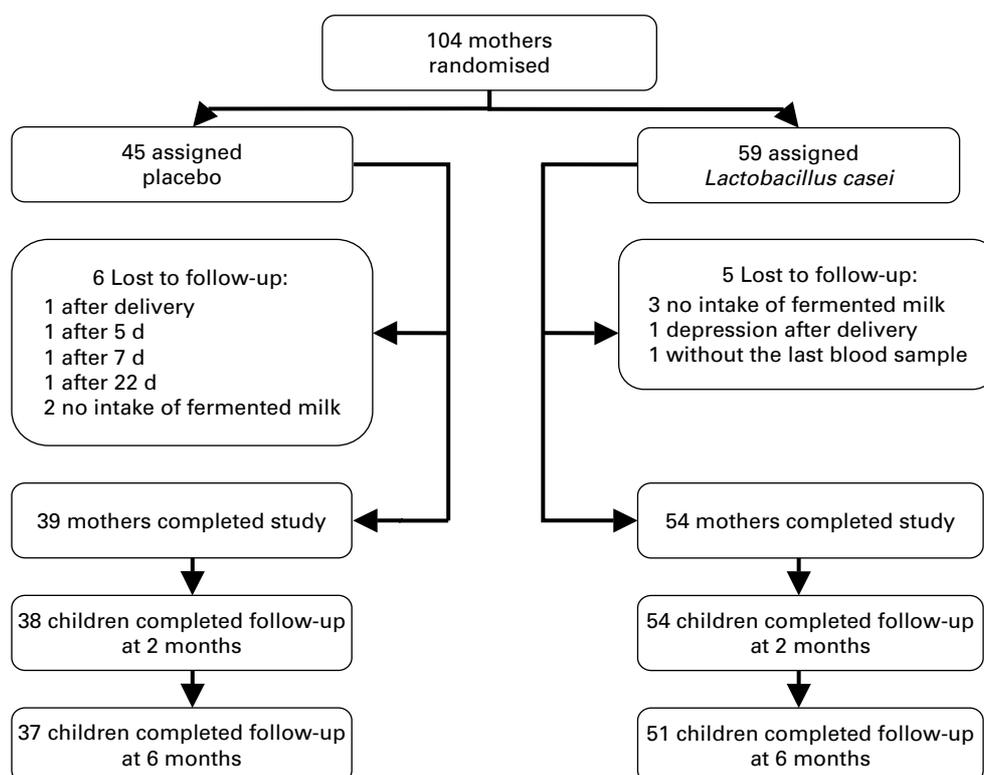


Fig. 2. Trial profile.

analysed by calculating the percentage of INF- γ^+ -producing CD8 $^-$ T cells and the percentage of IL-4 $^+$ -producing CD8 $^-$ T cells. The cytotoxic T cell type 1/cytotoxic T cell type 2 (Tc1/Tc2) ratio was assessed by analysing the percentage of INF- γ^+ -producing CD8 $^+$ T cells and the percentage of IL-4 $^+$ -producing CD8 $^+$ T cells. Since the CD4 molecule is down-regulated by phorbol myristate acetate plus ionomycin activation, CD8 $^-$ CD3 $^+$ T cells were gated for the analysis of CD4 T cells. The absolute counts of INF- γ^+ -producing cells and of IL-4 $^+$ -producing cells in whole blood were calculated as the products of the absolute CD8 $^-$ or CD8 $^+$ T cell count and the percentages of each cytokine-secreting cell population.

Analyses of lymphocyte subsets. The Haematology Laboratory of the Hospital Universitario Dr Negrín de Gran Canaria analysed haematological parameters in peripheral blood samples collected with EDTA. Routine blood haematology (number of erythrocytes, Hb concentration, packed cell volume, mean corpuscular volume, mean corpuscular Hb, mean corpuscular Hb concentration, erythrocyte distribution width, number of leucocytes, lymphocytes, monocytes, neutrophils, eosinophils and basophils) was assessed using an automated haematology analyser (Cell-Dyn 4000[®]; Abbott Diagnostics, Santa Clara, CA, USA).

The following lymphocyte subsets were measured: mature T cell (CD3 $^+$); helper T cell (CD3 $^+$ CD4 $^+$); cytotoxic/suppressor T cell (CD3 $^+$ CD8 $^+$); B cells (CD19 $^+$); NK cells (CD3 $^-$ CD56 $^+$); NK T-like cells (CD3 $^+$ CD56 $^+$). EDTA whole blood cells were incubated with the monoclonal antibodies combination: CD3FITC/CD8PE/CD45PerCP/CD4APC, and CD3FITC/CD56PE/CD45PerCP/CD19APC (all from BD Biosciences, San Jose, CA, USA). After 10 min incubation at room temperature in the dark, erythrocyte lyses was performed. Samples were then washed with PBS (Sigma, St Louis, MO, USA) and acquired on a cytometer (FACSort[®]; BD Biosciences). Analysis was carried out on the Paint-a-gate software (BD Biosciences). Lymphocytes were gated by forward and side scatter and pan-leucocyte (CD45; BD Biosciences) marker expression.

The absolute counts of lymphocyte subpopulations in the whole blood were calculated as the products of the absolute lymphocyte counts and the percentages of each lymphocyte subpopulation.

Analyses of complement components and immunoglobulins. The serum peripheral blood samples were analysed in the Biochemistry Laboratory of the Hospital Universitario Insular de Gran Canaria. The following parameters were assessed in serum from clotted samples: complement components C3 and C4, IgA, IgE, IgM, IgG and the subclass IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4, all determined by nephelometry (Behring nephelometer analyser; Dade-Behring, Marburg, Germany).

Analyses of breast milk samples

Collection and processing. Three samples of maternal milk were determined: colostrum (within 72 h after delivery; n 104), early milk (10 d postpartum; n 99) and mature milk (45 d postpartum; n 91). Colostrum samples were obtained at the Hospital Universitario Materno Infantil de Gran Canaria by manual extraction, and the early and mature milk were obtained at the mother's home with an electric breast-pump. All samples were collected in sterile plastic tubes and stored

at -20°C until analysis. After thawing, the fatty layer and the cellular elements of the breast milk were removed by two centrifugations. Some of the resulting translucent whey was immediately used for measurement of transforming growth factor (TGF)- β , and the rest was stored in samples in plastic tubes at -20°C .

IgA and cytokine assays. The concentrations of TGF- β 1 and TGF- β 2 in the breast milk aqueous phase were analysed using commercial ELISA kits (R&D Systems Inc., Minneapolis, MN, USA) according to the manufacturer's protocols. Before assay for TGF- β 1 the sample had to be treated with 1 M-HCl to adjust to pH 3; the acidified sample was incubated for 15 min at room temperature and neutralised with 1 M-NaOH and immediately tested. The treatment was performed to activate latent TGF- β 1 to the immunoreactive form⁽²⁵⁾. IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 and TNF- α contents in the breast milk aqueous phase were quantified by means of BD[™] Cytometric Bead Array (CBA) by flow cytometry, using a Human Inflammation CBA kit (Becton Dickinson Biosciences, San Diego, CA, USA). The minimum detectable concentrations of each cytokine were 1.90 pg/ml (IL-12), 7.2 pg/ml (IL-1 β), 2.5 pg/ml (IL-6), 3.3 pg/ml (IL-10) and 3.7 pg/ml (TNF- α). The concentration of IgA was determined by nephelometry (Behring nephelometer analyser; Dade-Behring, Marburg, Germany).

Infant follow-up

The first evaluation was carried out 72 h after delivery. We evaluated the anthropometric characteristics of the newborn (weight, stature, head circumference, neonatal period, neonatal screening, Apgar scores). Additionally, anthropometric measurements and respiratory episodes (cold, otitis, pharyngitis, laryngitis, bronchitis, pneumonia), gastrointestinal symptoms (oral candidiasis, regurgitation, diarrhoea, colic, constipation), dermatitis and allergic episodes in the newborn were collected at 2 and 6 months. These evaluations were carried out at the Hospital Universitario Materno Infantil de Canarias. Moreover, mothers received a diary to write down the type of feeding, the medication used and the infant's health problems during the study.

Statistical analysis

At baseline, qualitative variable distribution was tested through the χ^2 test. Student's t test was used to assess differences in quantitative variables. The analysis of the data was carried out on the intention-to-treat population. Because of the lack of normality in most of the variables, the association between different women's characteristics and the immune profile was assessed through non-parametric Mann-Whitney U tests. Data were expressed as the median plus the interquartile range, absolute variation (AV2: visit 2 – visit 1; AV3: visit 3 – visit 1; AV4: visit 3 – visit 2) and percentage variation (PV2: $100 \times (\text{visit 2} - \text{visit 1})/\text{visit 1}$; PV3: $100 \times (\text{visit 3} - \text{visit 1})/\text{visit 1}$). A value corresponding to half the cut-off value was assigned to those milk samples that had a concentration below the cut-off. Milk cytokine concentrations were expressed in pg/ml and IgA concentrations were expressed in mg/l. A significance level of $P < 0.05$

was applied for all the tests. Data were analysed with SPSS (version 12.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Results

Baseline characteristics of the mother and birth are presented in Table 1. Baseline biological parameters were similar for both the placebo and *L. casei* groups (Table 2).

Table 3 shows the effects of milk supplementation with *L. casei* on several biological parameters. No significant differences were observed between the *L. casei* and control groups in the absolute change of Th1/Th2 and Tc1/Tc2 profiles over the 6-week period. The *L. casei* group showed a higher number of CD3⁺ T cells (AV: 316 cells/ μ l and 140 cells/ μ l for *L. casei* and control groups, respectively) and CD8⁺ T cells (AV: 98 cells/ μ l and 44 cells/ μ l for *L. casei* and control groups, respectively) at 45 d postpartum, although this tendency was not statistically significant. B cells (CD19⁺) showed a non-significant increase between 10 and 45 d postpartum with an AV of 17.5 cells/ μ l in the *L. casei* group and 6.5 cells/ μ l in the control group. The treatment effects on NK cells (CD3⁺CD56⁺) were statistically significant when the AV of NK cells were measured at 10 and 45 d postpartum (AV: 18.5 cells/ μ l and -13 cells/ μ l for *L. casei* and control groups, respectively; $P=0.026$) (Fig. 3). There was no significant treatment effect on the total leucocyte changes over the 6-week study. The treatment effect on erythrocyte count changes over the 6-week study was statistically significant for both groups (AV: $18.5 \times 10^6/\mu$ l and $10.6 \times 10^6/\mu$ l for *L. casei* and control groups, respectively;

$P=0.041$). However, treatment was not associated to a significant change in other haematological parameters over the 6-week study (data not shown). No significant differences between the treatment and the control groups were found for changes in plasma immunoglobulin concentration over the 6 weeks, except for IgG4 concentration at 10 d postpartum, where a significant effect of the treatment on the AV of IgG4 was observed (36 and 63 mg/l for *L. casei* and control groups, respectively; $P=0.041$). There was no significant treatment effect on the changes of complement components C3 and C4 over the 6-week period.

For the entire study period, in general, no significant differences were found for changes in TGF- β 1, TGF- β 2, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 and IgA in the breast milk aqueous phase. We observed a significant difference at 45 d postpartum for IL-10 (percentage variation -5.8 and 1.1% for *L. casei* and control groups, respectively; $P=0.014$) and TNF- α (percentage variation -31.7 and -1.6% for *L. casei* and control groups, respectively; $P=0.002$). However, it should be noted that TNF- α concentrations were detected only in 64% of colostrum samples, in 40% of early milk samples and in 30% of mature milk. The percentage of positive samples for IL-10 concentrations was 58% in colostrum, 20% in early milk and 18% in mature milk. Figure 4 shows the percentage variation of TGF- β 1, TGF- β 2, TNF- α and IL-10 in breast milk in *L. casei* and placebo groups.

In reference to the growth of the newborns during the study period, we note that there were no significant differences between groups in relation to weight (data not shown). Information about the rest of the parameters collected during the infant 6-month follow-up period is summarised in Table 4. We observed that *L. casei* consumption was associated with a lower incidence of gastrointestinal episodes and a lower rate of medication in infants during the period from 2 to 6 months.

Table 1. Mother and birth baseline characteristics in *Lactobacillus casei* (LC) or placebo groups

(Mean values and standard deviations or proportions)

	LC (n 59)		Placebo (n 45)		P
	Mean	SD	Mean	SD	
Age (years)	29.4	4.5	30.2	4.2	0.343*
BMI before pregnancy (kg/m ²)	23.0	3.3	23.3	3.5	0.640*
Gestation (weeks)	40.2	1.1	39.7	1.5	0.077*
Newborn weight (kg)	3.3	0.4	3.2	0.4	0.333*
Newborn height (cm)	50.3	1.9	50.5	2.2	0.946*
Educational level (%)					0.325†
Primary	16.9		27.3		
Secondary	49.2		36.4		
University	33.9		36.4		
Number of children (%)					0.933†
Primiparous	76.3		75.6		
Multiparous	23.7		24.4		
Physical activity (%)					0.801†
Sedentary	28.8		31.8		
Moderate	47.5		40.9		
Active	23.7		27.3		
Smoking during pregnancy (%)	8.5		17.8		0.245†
Miscarriage risk (%)	25.9		24.4		0.870†
Normal delivery (%)	78.0		82.2		0.592†
Fetal discomfort (%)	1.7		2.3		0.833†
Apgar score (5 min) (%)					0.693†
8	5.2		2.2		
9	31.0		35.6		
10	63.8		62.2		

* P value obtained using the *t* test.

† P value obtained using the χ^2 test.

Discussion

The present study found that the consumption of milk fermented with *L. casei* during the puerperium showed a trend of modulating the immune response. After the consumption of milk fermented with *L. casei* during the puerperium we observed a significant increase of NK cells and a non-significant increase of T and B lymphocytes. No significant differences were observed between the *L. casei* and control groups in the absolute change of Th1/Th2 and Tc1/Tc2 profiles over the 6-week period. These data are contradictory to other reports where probiotic consumption was observed to produce a rise in IFN- γ ⁽²⁶⁾, thus increasing the Th1/Th2 profile. Nevertheless, in these studies the concentration of IFN- γ was directly quantified. We measured the percentage of IFN- γ ⁺-producing CD8⁻ and CD8⁺ T cells. However, since a non-significant increase of CD3⁺ and CD8⁺ T cells in the intervention group was observed, an alteration of the relative values of CD8⁺ and CD8⁻ T cells could occur. In order to minimise this effect, the absolute values of IFN- γ -producing CD8⁻ and CD8⁺ T cells were calculated, but no differences in the Th1/Th2 and Tc1/Tc2 profiles were observed either. In addition, a non-significant increase of the CD3⁺CD56⁺ subpopulation was also observed in the *L. casei* group. For the analysis of IFN- γ - and IL-4-producing T cells we gated on CD3⁺CD8⁻ and CD3⁺CD8⁺ T cells. Therefore,

Table 2. Baseline biological parameters in *Lactobacillus casei* (LC) and placebo groups (Median values and 25th to 75th percentiles (p25–p75))

Parameters	LC (n 59)		Placebo (n 45)		P*
	Median	p25–p75	Median	p25–p75	
Th1/Th2 profile†	4.4	3.6–5.5	3.8	3.0–5.4	0.147
Tc1/Tc2 profile‡	22.7	10.7–37.8	21.0	13.4–53.5	0.490
Lymphocyte subsets (cells/ μ l)					
CD3	1559	1237–1856	1495	1241–1841	0.385
CD19	164	102–218	174	112–248	0.414
CD3 ⁻ CD56 ⁺	132	82–195	122	95–161	0.632
CD3 ⁺ CD4 ⁺	899	715–1145	878	704–1110	0.567
CD3 ⁺ CD8 ⁺	488	373–593	481	391–599	0.646
CD3 ⁺ CD56 ⁺	74	40–112	47	25–98	0.255
Leucocytes (cells/ μ l)					
Neutrophil	6520	4940–8440	6615	5210–8023	0.798
Lymphocytes	2220	1810–2560	2180	1900–2573	0.240
Monocytes	579	450–673	564	484–6634	0.783
Eosinophils	175	94–252	243	155–327	0.016
Basophils	30	18–56	37	25–58	0.429
Immunoglobulins (mg/l)					
IgG	7750	6460–9570	8200	6920–10200	0.412
IgG1	4780	3820–5690	4730	3590–5860	0.976
IgG2	2150	1690–2680	2330	1940–2900	0.386
IgG3	280	150–440	300	210–390	0.773
IgG4	220	120–380	290	180–530	0.101
IgA	1640	1220–2060	1810	1310–2530	0.095
IgM	1220	850–1550	1100	710–1570	0.399
IgE (IU/ml)	26	12–73	54	19–165	0.017
Complement components (mg/l)					
Complement C3	1340	1170–1620	1380	1190–1590	0.170
Complement C4	230	190–320	250	170–330	0.813

Th1, T helper type 1; Th2, T helper type 2; Tc1, cytotoxic T cell type 1; Tc2, cytotoxic T cell type 2.

* P values were obtained using the Mann–Whitney U test.

† The Th1/Th2 profile was calculated as CD8⁻IFN- γ ⁺ (cells/ μ l)/CD8⁺IL4⁺ (cells/ μ l).

‡ The Tc1/Tc2 profile was calculated as CD8⁺IFN- γ ⁺ (cells/ μ l)/CD8⁺IL-4⁺ (cells/ μ l).

NK and NK T-like (CD3⁺CD56⁺) cells were not excluded in the analysis. Since these cells are high producers of IFN- γ ⁽²⁷⁾, a bias in the Th1/Th2 and Tc1/Tc2 profiles could occur, although this effect was probably limited due to the low numbers of these cells in peripheral blood⁽²⁷⁾.

Another explanation for this divergence could be that our population was a group of women who had just given birth. During pregnancy the maternal immune system is modified to avoid rejection of the fetus, although the precise mechanisms of the maternal immune system are not fully understood⁽²⁸⁾. To protect the newborn, the mother's immunity undergoes complex changes during pregnancy and the puerperium. Thus, it is possible that the effects of fermented milk with *L. casei* in these mothers were lower and different from those observed in other circumstances. The survival of the fetus seems to depend significantly on the modulation of the immune response to avoid the occurrence of rejection⁽²⁹⁾. To explain this phenomenon, it has been proposed in pregnant mice^(7,30) that immune modulation during successful pregnancy is Th2-related, with the predominance of humoral Th2-type immunity and a decline of cell-mediated Th1-type immunity. Previous studies have proven that Th2 responses are prevalent in the peripheral blood of pregnant women. Thus, Kruse *et al.*⁽³⁾ studied the mRNA expression in lymphocytes from peripheral blood of pregnant women throughout the pregnancy and in the puerperium and compared these findings with those observed in non-pregnant women. These authors observed that the IL-4/IFN- γ relationship was significantly higher in the first

and second trimester of pregnancy than during the puerperium or in non-pregnant women. Using another methodology (flow cytometry), Reinhard *et al.*⁽⁴⁾ observed an increase of IL-4⁺-secreting CD4⁺ T cells and a decrease of IFN- γ ⁺-secreting CD4⁺ T cells in pregnant women as compared with non-pregnant women. Other researchers evaluated the differences in cytokine production among women with normal pregnancies and women with repeated abortions. Likewise, Hill *et al.*⁽⁵⁾ observed that peripheral blood mononuclear cells from women with repeated abortions, activated with trophoblastic extracts, produced mainly IFN- γ , while those from women with normal pregnancies produced mostly IL-10. These data have been corroborated by another group⁽⁶⁾ who observed that phytohaemagglutinin-activated peripheral blood mononuclear cells from women with normal pregnancies produced Th2 cytokines, while the Th1 cytokine production was increased in women with repeated abortions. The postpartum period has been thought of as a time for immunological recovery from the profound immunological changes of pregnancy. This could induce a complex immunological response attenuating the effects of *L. casei* on the systemic immune response during the puerperium.

According to other studies⁽²⁶⁾, the study of the lymphocyte subpopulations showed a significant increase of the number of NK cells in the *L. casei* group. NK cells are involved in the specific and non-specific mechanisms of defence, and both NK and NK T cells are high producers of IFN- γ . NK cells are part of the first line of the individual defence

Table 3. Effects of milk supplementation with *Lactobacillus casei* (LC) on biological parameters during the overall study period (Median values and 25th to 75th percentiles (p25–p75))

Parameters	Absolute variation (visit 2 – visit 1)*					Absolute variation (visit 3 – visit 1)†				
	LC (n 58)		Placebo (n 42)		P‡	LC (n 58)		Placebo (n 41)		P‡
	Median	p25–p75	Median	p25–p75		Median	p25–p75	Median	p25–p75	
Th1/Th2 profile§	0.7	0.03–1.5	0.7	–0.3–1.4	0.978	0.7	–0.2–1.9	0.9	0.04–2.8	0.624
Tc1/Tc2 profile¶	3.9	0.4–20.3	1.4	–3.1–19.2	0.123	3.6	–5.9–18.4	5.9	–4.4–34.0	0.630
Lymphocyte subsets (cells/μl)										
CD3	178.0	–146–319	156.0	–124.0–465.0	0.502	316.0	–44.0–500.0	140.0	–2.0–520.0	0.613
CD19	–5.0	–38.0–53.0	–2.5	–32.5–64.8	0.700	11.5	–20.3–38.8	12.5	–48.8–62.5	0.845
CD3 ⁺ CD4 ⁺	60.5	–98.2–251.5	47.0	–65.3–296.3	0.727	146.0	–49.0–297.0	140.0	–42.0–291.0	0.853
CD3 ⁺ CD8 ⁺	60.5	–27.0–127.5	63.5	–42.3–157.3	0.650	98.0	14.0–189.0	44.0	–48.0–168.0	0.129
Leucocytes (cells/μl)										
Neutrophils	–2550	–4170–1080	–2540	–3722–1020	0.757	–2780	–4730–1495	–3225	–4835–1767	0.551
Lymphocytes	230.0	–110.0–470.0	250.0	27.5–622.5	0.296	295.0	–5.0–612.0	280.0	5.0–610.0	0.715
Monocytes	–117.0	–304.0–38.0	–126.0	–234–34.5	0.788	–74.5	–165.8–41.0	–81.0	–178.5–1.0	0.800
Eosinophils**	15.1	–21.6–114.6	10.0	–24.29–37.0	0.221	–2.9	–32.1–64.2	–25.7	–46.5–45.2	0.084
Basophils	1.0	–17.0–25.0	–3.5	–22.8–24.0	0.589	0.0	–17.3–16.3	2.5	–28.5–16.0	0.831
Complement components (mg/l)										
Complement C3	–110	–290–60	–60	–325–82	0.389	–310	–483–76	–240	–450–75	0.764
Complement C4	20	–42–77	19	–49–75	0.781	–24	–71–19	–23	–80–31	0.724
Immunoglobulins (mg/l)										
IgG	1680	1100–2500	2140	1080–2900	0.430	2810	2070–4010	2680	1810–3590	0.869
IgG1	1220	510–1790	1230	650–2020	0.547	1150	–233–2135	1520	470–2240	0.236
IgG2	620	320–850	750	300–1350	0.147	760	110–1430	920	350–1690	0.287
IgG3	47	20–120	64	25–118	0.589	86	–16–160	38	–15–130	0.331
IgG4	36	–1–74	63	13–132	0.041	18	–17–131	78	10–221	0.056
IgA	370	180–640	380	250–680	0.653	234	–45–570	230	–72–555	0.545
IgM	250	100–380	310	110–520	0.239	138	–25–403	162	–10–387	0.806
IgE**	–35	–252–105	–2	–175–97	0.478	–112	–369–90	–185	–395–8	0.338

Probiotic intake and puerperium

Th1, T helper type 1; Th2, T helper type 2; Tc1, cytotoxic T cell type 1; Tc2, cytotoxic T cell type 2.

* Absolute variation between the values at 10 d and 3 d postpartum.

† Absolute variation between the values at 45 d and 3 d postpartum.

‡ P values were obtained using Mann–Whitney U tests.

§ The Th1/Th2 profile was calculated as CD8⁺IFN-γ⁺ (cells/μl)/CD8⁺IL-4⁺ (cells/μl).

|| P value was obtained using the t test.

¶ The Tc1/Tc2 profile was calculated as CD8⁺IFN-γ⁺ (cells/μl)/CD8⁺IL-4⁺ (cells/μl).

** Due to the basal difference between groups, the percentage variation was calculated.

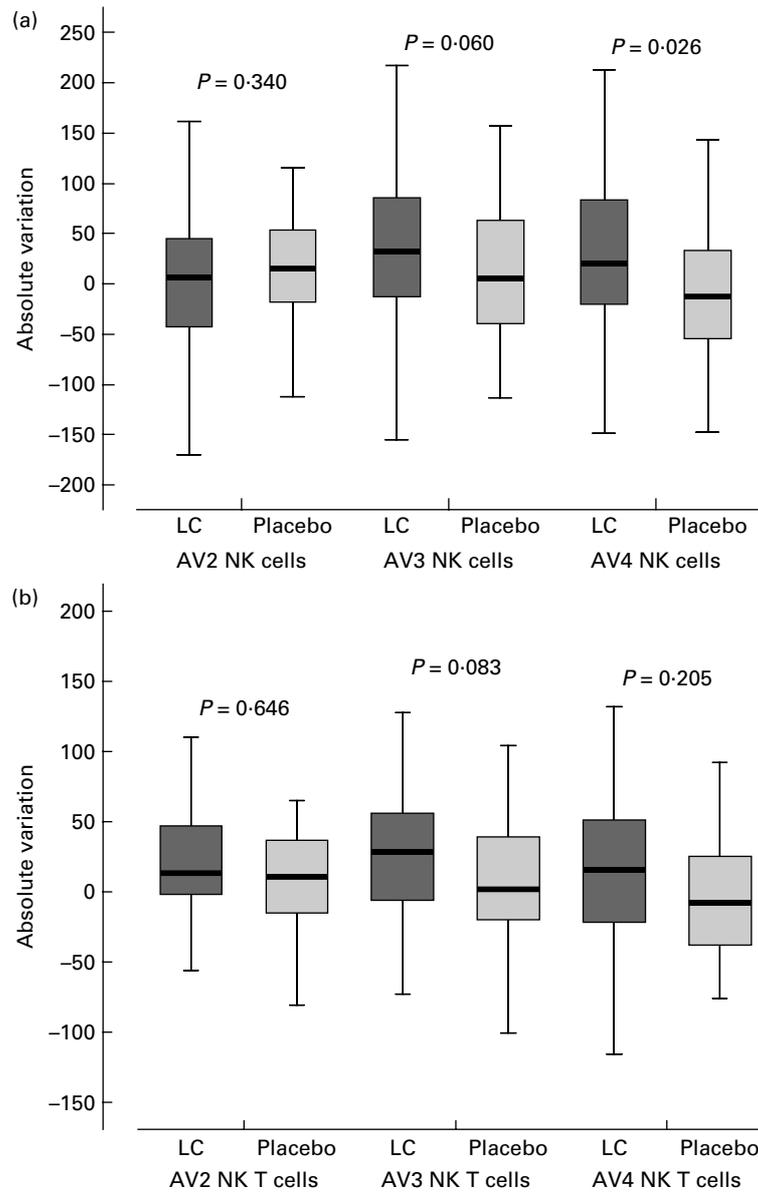


Fig. 3. Effects of milk supplementation with *Lactobacillus casei* (LC) on natural killer (NK) cells (CD3⁻CD56⁺) (a) and NK T-like cells (CD3⁺CD56⁺) (b) during the overall study period. AV2, absolute variation between the values at 10 d and 3 d postpartum; AV3, absolute variation between the values at 45 d and 3 d postpartum; AV4, absolute variation between the values at 45 d and 10 d postpartum. Values (horizontal bars) are medians and the boxes represent the 25th to 75th percentiles. The values outside vertical bars are considered outliers. *P* values were obtained using the Mann–Whitney *U* test.

barrier, together with macrophages and polymorphonuclear cells. In agreement with previous reports^(26,31), we observed a higher AV in the number of CD3⁺, CD19⁺ and CD8⁺ T cells in the *L. casei* group, although these changes did not reach statistical significance.

No significant differences between the treatment and the control groups were found in plasma immunoglobulin concentration over the 6 weeks. These findings are in contrast with previous reports^(32,33). Regarding IgG and IgE, the present results showed that the AV of IgG2, IgG4 and IgE concentrations (only significant for IgG4) decreased between visits 1 and 3 in the *L. casei* group. A possible explanation of these findings could be a lower Th2 activity in the intervention group, as has been previously suggested in other studies with probiotics^(31,33).

In the overall period, no significant differences were found in the TGF-β1, TGF-β2, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-12 and IgA changes in the breast milk aqueous phase. TGF-β is mainly produced by T helper type 3 cells⁽³⁴⁾. The suppressive and regulator actions of these cells in the development of allergy and immunological tolerance in the gastrointestinal tract have been emphasised. As such, probiotics have demonstrated the ability to revert the increment of the intestinal permeability and to increase the specific IgA intestinal response, promoting its mechanisms of barrier defence. Thus, several groups have evaluated probiotic effects on children with atopic eczema and food allergy, in which these mechanisms are altered^(35–37). Some probiotics have been shown to contribute to the processing of food antigens and to reduce their allergenicity *in vitro* and *in vivo* studies. Another study observed that administering

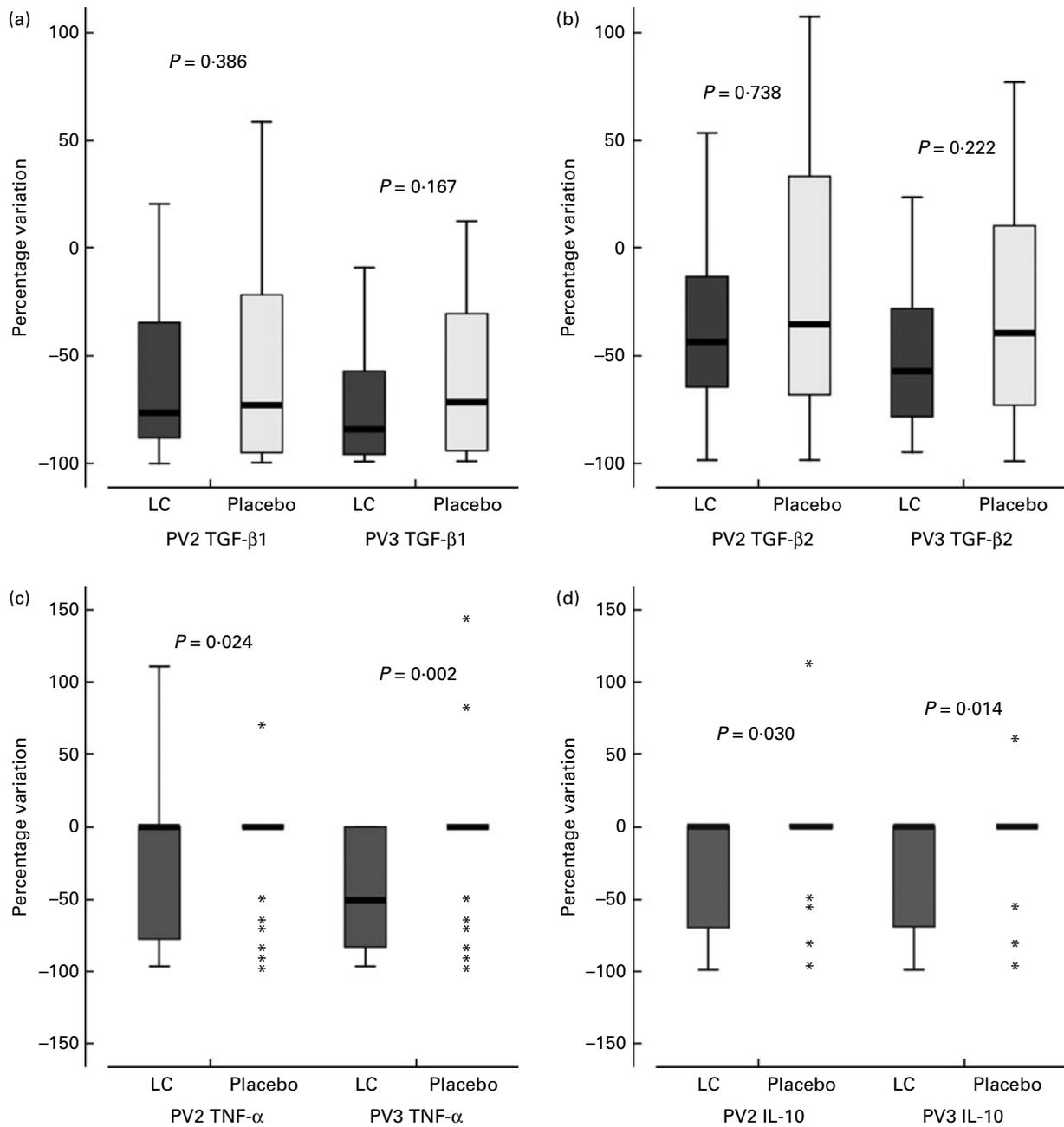


Fig. 4. Percentage variation of cytokines in breast milk in *Lactobacillus casei* (LC) and placebo groups. Percentage variation was calculated due to the basal difference in TNF- α and IL-10 concentrations between groups. PV2, percentage variation between the values at 10 d and 3 d postpartum; PV3, percentage variation between the values at 45 d and 3 d postpartum; TGF- β , transforming growth factor- β . Values (horizontal bars) are medians and the boxes represent the 25th to 75th percentiles. The values outside vertical bars are considered outliers. In (c) and (d) outlier values for the placebo group are shown (*). *P* values were obtained using the Mann–Whitney *U* test.

probiotics to pregnant and lactating mothers increased the immunoprotective potential of breast milk by increasing the TGF- β concentrations in mother's milk⁽³⁸⁾. This finding was not seen in the present study.

Borrueal *et al.*⁽³⁹⁾ studied the probiotic effects on TNF- α liberation by intestinal mucus, as TNF- α carries out a key function on the pathogenicity of intestinal inflammation in Crohn's disease. They found that TNF- α liberation by irritated mucus in Crohn's disease decreased significantly after the culture with *L. casei* or *L. bulgaricus*. These results are in line with

the present study where a significant decrease of the percentage variation in TNF- α concentration in breast milk between visits 1 and 3 in the *L. casei* group was observed. However, these results should be taken with caution since the concentrations of IL-10 and TNF- α in milk samples were near the detection limit of the technique. The TNF- α concentrations in colostrum are in positive agreement with the results obtained by Takahata *et al.*⁽⁴⁰⁾. However, the percentage of positive samples was higher (77%) than those detected in the present study (64%). Nevertheless, the work presented

Table 4. Infant follow-up (proportions)

Parameters	0–2 months		<i>P</i> *	2–6 months		<i>P</i> *
	LC (<i>n</i> 54)	Placebo (<i>n</i> 38)		LC (<i>n</i> 51)	Placebo (<i>n</i> 37)	
Breast-fed (%)	92.6	81.6	0.929	52.9	40.5	0.250
Nursery school (%)	–	–	–	3.9	10.8	0.206
Medication use (%)	88.9	89.5	0.929	74.5	91.9	0.037
Respiratory symptoms (%)	13.0	10.5	0.495	33.3	16.2	0.071
Gastrointestinal symptoms (%)	51.9	63.2	0.281	29.4	54.1	0.020
Allergies (%)	–	–	–	3.9	5.4	0.174
Dermatitis (%)	25.9	36.8	0.263	21.6	37.8	0.095

LC, *Lactobacillus casei*.

* *P* values obtained using the χ^2 test.

by Hawkes *et al.*⁽⁴¹⁾ showed higher ranges of detection, but the percentage of positive samples was lower. Hawkes *et al.*⁽⁴¹⁾ could determine 37% of positive samples in colostrum, 25% in early milk and 22% in mature milk. In our data, 64% of positive samples in colostrum and 40% in early and 30% in mature milk were detected. The analysis of cytokines in the present study was carried out by means of the cytometric bead array technique. To our knowledge, this is the first time this technique has been used to analyse breast milk. It was quite complicated to work with the colostrum samples, since it is a very dense substance with a high percentage of fat that was necessary to eliminate. The use of the novel technique could explain the different percentages of positive samples detected.

From a clinical perspective, others have suggested a beneficial effect of probiotics on the paediatric population^(33,38,42–45). We observed that *L. casei* consumption was associated with a lower incidence of gastrointestinal episodes and a lower medication rate in infants from 2 to 6 months. Other studies have suggested that probiotic use in children produces benefits in the remission of symptoms of diarrhoea, food allergies, and dermatitis^(33,38,42). In addition, our findings could stimulate future research in which the main hypothesis of study would be to prove the benefits for children of the consumption of fermented milk with *L. casei* during pregnancy and lactation.

We acknowledge that the relative absence of functional analyses of T, NK and B cells may be a limitation of the present study. The main variable, the Th1/Th2 profile, was assessed by means of a functional study such as the study of IFN- γ - and IL-4-producing T cells after polyclonal activation. However, no functional analyses of B and NK cells were carried out, although data from several studies would minimise these limitations: the immunoglobulin changes may be an indirect measurement of B cell function, and a positive correlation between NK cell numbers and NK activity in immunocompetent individuals exists^(46,47).

Another possible limitation of the present study is the number of women lost to follow-up. However, the motivation of pregnant and lactating women was very high as was the participation rate. Moreover, the number of women lost to follow-up was not significant. There were six drop-outs in the control group of which two were due to lack of adherence to treatment. The number of drop-outs was five in the intervention group (three attributed to lack of adherence).

To our knowledge this is the first randomised, double-blind clinical trial presenting results about the effects of *L. casei* during the puerperium on immunomodulation of healthy lactating mothers. In conclusion, the present results are the first step to assess the role of *L. casei* on this special population and on their children. These findings make it possible to identify those immunological markers that are more appropriate to assess the role of probiotics on the immune response during lactation. Future research involving larger populations and longer follow-up periods could definitively confirm or reject our findings.

Acknowledgements

The authors wish to thank all the mothers and their infants participating in the study, as well as the midwives of Primary Health Care for their collaboration. The authors would like to acknowledge the methodological technical assistance from Professor José Luis Pérez-Arellano from the Infectious Disease Unit of the Hospital Universitario Insular de Gran Canaria, Marian Fabreas, Ana María Lamas and Marta Riaño Ruíz from the Biochemistry Laboratory of the Hospital Universitario Insular de Gran Canaria and Maria Cárdenas Bilbao and Ayoze García Saavedra from the Immunology Laboratory of the Hospital Universitario Dr Negrin de Gran Canaria. A particular acknowledgement is made for Magdalena Villanueva Cabrera on behalf of The Canarian Pro-Breastfeeding Association. Special thanks to Joy Ngo, RD for her help in editing the English version of the manuscript.

The present study was supported by Danone S. A. through a research contract with the University Foundation of Las Palmas.

None of the authors had a conflict of interest, except J. C. who works for Danone S. A.

A. O.-A. was involved in the study design, coordinated the fieldwork, processed the data, did the statistical analysis, interpreted the data and drafted the manuscript. L. S.-M. obtained the funding, initiated and supervised the project, designed the study and reviewed the manuscript. A. S.-V. supervised the statistical analysis and reviewed the manuscript. C. R.-G. was involved in the cytokine assays, processing of breast milk samples and reviewed the manuscript. O. R. and J. G. recruited the subjects. L. P.-Q. and M. S. were responsible for the children's evaluation. A. L. and T. M. were responsible

for the lymphocyte subsets and haematological analyses. A. S. was responsible for the immunoglobulin analyses. F. C. was involved in the randomisation and distribution of the study products. J. C. was involved in the study design, supervised the project and reviewed the manuscript. L. P.-Q. and T. M. commented on the manuscript.

References

1. Aagaard-Tillery KM, Silver R & Dalton J (2006) Immunology of normal pregnancy. *Semin Fetal Neonatal Med* **11**, 279–295.
2. Makhseed M, Raghupathy R, Azizieh F, Omu A, Al-Shamali E & Ashkanani L (2001) Th1 and Th2 cytokine profiles in recurrent aborters with successful pregnancy and with subsequent abortions. *Hum Reprod* **16**, 2219–2226.
3. Kruse N, Greif M, Moriabadi NF, Marx L, Toyka KV & Rieckmann P (2000) Variations in cytokine mRNA expression during normal human pregnancy. *Clin Exp Immunol* **119**, 317–322.
4. Reinhard G, Noll A, Schlebusch H, Mallmann P & Ruecker AV (1998) Shifts in the Th1/Th2 balance during human pregnancy correlate with apoptotic changes. *Biochem Biophys Res Comm* **245**, 933–938.
5. Hill JA, Polgar K & Anderson DJ (1995) T-helper 1-type immunity to trophoblast in women with recurrent spontaneous abortion. *JAMA* **273**, 1933–1936.
6. Raghupathy R, Makhseed M, Azizieh F, Hassan N, Al-Azemi M & Al-Shamali E (1999) Maternal Th1- and Th2-type reactivity to placental antigens in normal human pregnancy and unexplained recurrent spontaneous abortions. *Cell Immunol* **196**, 122–130.
7. Chaouat G, Menu E, Clark DA, Dy M, Minkowski M & Wegmann TG (1990) Control of fetal survival in CBA × DBA/2 mice by lymphokine therapy. *J Reprod Fertil* **89**, 447–457.
8. Wilder RL (1998) Hormones, pregnancy, and autoimmune diseases. *Ann N Y Acad Sci* **840**, 45–50.
9. Zimmer JP, Garza C, Butte NF & Goldman AS (1998) Maternal blood B-cell (CD19⁺) percentages and serum immunoglobulin concentrations correlate with breast-feeding behavior and serum prolactin concentration. *Am J Reprod Immunol* **40**, 57–62.
10. Zimmer JP, Garza C, Heller ME, Butte NF & Goldman AS (1996) Relationship between serum prolactin, lactation and changes in maternal blood B-cell (CD19⁺) percents during the first 8 months post-partum. *J Reprod Immunol* **30**, 81–95.
11. Zimmer JP, Garza C, Heller ME, Butte NF & Goldman AS (1998) Postpartum maternal blood helper T (CD3⁺CD4⁺) and cytotoxic T (CD3⁺CD8⁺) cells: correlations with iron status, parity, supplement use, and lactation status. *Am J Clin Nutr* **67**, 897–904.
12. Salminen SJ, Gueimonde M & Isolauri E (2005) Probiotics that modify disease risk. *J Nutr* **135**, 1294–1298.
13. Erickson KL & Hubbard NE (2000) Probiotic immunomodulation in health and disease. *J Nutr* **130**, Suppl. 2, S403–S409.
14. O'Sullivan GC, Kelly P, O'Halloran S, Collins C, Collins JK, Dunne C & Shanahan F (2005) Probiotics: an emerging therapy. *Curr Pharm Des* **11**, 3–10.
15. Perdigon G, Fuller R & Raya R (2001) Lactic acid bacteria and their effect on the immune system. *Curr Issues Intest Microbiol* **2**, 27–42.
16. Isolauri E, Sutas Y, Kankaanpaa P, Arvilommi H & Salminen S (2001) Probiotics: effects on immunity. *Am J Clin Nutr* **73**, Suppl. 2, S444–S450.
17. Lopez-Varela S, Gonzalez-Gross M & Marcos A (2002) Functional foods and the immune system: a review. *Eur J Clin Nutr* **56**, Suppl. 3, S29–S33.
18. Maassen CB, van Holten-Neelen C, Balk F, den Bak-Glashouwer MJ, Leer RJ, Laman JD, Boersma WJ & Claassen E (2000) Strain-dependent induction of cytokine profiles in the gut by orally administered *Lactobacillus* strain. *Vaccine* **18**, 2613–2623.
19. Spanhaak S, Havenaar R & Schaafsma G (1998) The effect of consumption of milk fermented by *Lactobacillus casei* strain Shirota on the intestinal microflora and immune parameters in humans. *Eur J Clin Nutr* **52**, 899–907.
20. Matsuzaki T (1998) Immunomodulation by treatment with *Lactobacillus casei* strain Shirota. *Int J Food Microbiol* **41**, 133–140.
21. Kato I, Tanaka K & Yokokura T (1999) Lactic acid bacterium potently induces the production of interleukin-12 and interferon- γ by mouse splenocytes. *Int J Immunopharmacol* **21**, 121–131.
22. Hori T, Kiyoshima J, Shida K & Yasui H (2002) Augmentation of cellular immunity and reduction of influenza virus titer in aged mice fed *Lactobacillus casei* strain Shirota. *Clin Diagn Lab Immunol* **9**, 105–108.
23. Bautista-Garfias CR, Ixta-Rodriguez O, Martínez-Gómez F, López MG & Aguilar-Figueroa BR (2001) Effect of viable or dead *Lactobacillus casei* organisms administered orally to mice on resistance against *Trichinella spiralis* infection. *Parasite* **8**, Suppl. 2, S226–S228.
24. Nagao F, Nakayama M, Muto T & Okumura K (2000) Effects of a fermented milk drink containing *Lactobacillus casei* strain Shirota on the immune system in healthy human subjects. *Biosci Biotechnol Biochem* **64**, 2706–2708.
25. Rigotti E, Piacentini GL, Ressa M, Pigozzi R, Boner AL & Peroni DG (2006) Transforming growth factor- β and interleukin-10 in breast milk and development of atopic diseases in infants. *Clin Exp Allergy* **36**, 614–618.
26. Marcos A, Warnberg J, Nova E, Gomez S, Alvarez A, Alvarez R, Mateos JA & Cobo JM (2004) The effect of milk fermented by yogurt cultures plus *Lactobacillus casei* DN-114001 on the immune response of subjects under academic examination stress. *Eur J Nutr* **43**, 381–389.
27. Bendelac A, Savage PB & Teyton L (2007) The biology of NKT cells. *Annu Rev Immunol* **25**, 297–336.
28. Pearson H (2002) Reproductive immunology: immunity's pregnant pause. *Nature* **420**, 265–266.
29. Gustafsson C, Hummerdal P, Matthiesen L, Berg G, Ekerfelt C & Ernerudh J (2006) Cytokine secretion in decidual mononuclear cells from term human pregnancy with or without labour: ELISPOT detection of IFN- γ , IL-4, IL-10, TGF- β and TNF- α . *J Reprod Immunol* **71**, 41–56.
30. Shimaoka Y, Hidaka Y, Tada H, Nakamura T, Mitsuda N, Morimoto Y, Murata Y & Amino N (2000) Changes in cytokine production during and after normal pregnancy. *Am J Reprod Immunol* **44**, 143–147.
31. Matsuzaki T & Chin J (2000) Modulating immune responses with probiotic bacteria. *Immunol Cell Biol* **78**, 67–73.
32. Fang H, Elina T, Heikki A & Seppo S (2000) Modulation of humoral immune response through probiotic intake. *FEMS Immunol Med Microbiol* **29**, 47–52.
33. Rinne M, Kalliomaki M, Arvilommi H, Salminen S & Isolauri E (2005) Effect of probiotics and breastfeeding on the bifidobacterium and lactobacillus/enterococcus microbiota and humoral immune responses. *J Pediatr* **147**, 186–191.
34. Faria AM & Weiner HL (2006) Oral tolerance: therapeutic implications for autoimmune diseases. *Clin Dev Immunol* **13**, 143–157.
35. Bottcher MF, Jenmalm MC, Garofalo RP & Bjorksten B (2000) Cytokines in breast milk from allergic and nonallergic mothers. *Pediatr Res* **47**, 157–162.

36. Oddy WH, Halonen M, Martinez FD, Lohman IC, Stern DA, Kurzius-Spencer M, Guerra S & Wright AL (2003) TGF- β in human milk is associated with wheeze in infancy. *J Allergy Clin Immunol* **112**, 723–728.
37. Bottcher MF, Jenmalm MC & Björkstén B (2003) Cytokine, chemokine and secretory IgA levels in human milk in relation to atopic disease and IgA production in infants. *Pediatr Allergy Immunol* **14**, 35–41.
38. Rautava S, Kalliomaki M & Isolauri E (2002) Probiotics during pregnancy and breast-feeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant. *J Allergy Clin Immunol* **109**, 119–121.
39. Borrueal N, Carol M, Casellas F, Antolin M, de Lara F, Espin E, Naval J, Guarner F & Malagelada JR (2002) Increased mucosal tumour necrosis factor α production in Crohn's disease can be downregulated *ex vivo* by probiotic bacteria. *Gut* **51**, 659–664.
40. Takahata Y, Takada H, Nomura A, Ohshima K, Nakayama H, Tsuda T, Nakano H & Hara T (2001) Interleukin-18 in human milk. *Pediatr Res* **50**, 268–272.
41. Hawkes JS, Bryan DL, James MJ & Gibson RA (1999) Cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α , TGF- β 1, and TGF- β 2) and prostaglandin E2 in human milk during the first three months postpartum. *Pediatr Res* **46**, 194–199.
42. Isolauri E, Arvola T, Sutas Y, Moilanen E & Salminen S (2000) Probiotics in the management of atopic eczema. *Clin Exp Allergy* **30**, 1604–1610.
43. Mastretta E, Longo P, Laccisaglia A, Balbo L, Russo R, Mazzaccara A & Gianino P (2002) Effect of *Lactobacillus* GG and breast-feeding in the prevention of rotavirus nosocomial infection. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **35**, 527–531.
44. Lin HC, Su BH, Chen AC, Lin TW, Tsai CH, Yeh TF & Oh W (2005) Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics* **115**, 1–4.
45. Schultz M, Gottl C, Young RJ, Iwen P & Vanderhoof JA (2004) Administration of oral probiotic bacteria to pregnant women causes temporary infantile colonization. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **38**, 293–297.
46. Shakhar K, Rosenne E, Loewenthal R, Shakhar G & Carp H (2006) High NK cell activity in recurrent miscarriage: what are we really measuring? *Hum Reprod* **21**, 2421–2425.
47. Shakhar K, Ben-Eliyahu S, Loewenthal R, Rosenne E & Carp H (2003) Differences in number and activity of peripheral natural killer cells in primary versus secondary recurrent miscarriage. *Fertil Steril* **80**, 368–375.

Valoración de la calidad nutricional de la dieta en gestantes
sanas de Canarias

Enviado a: Medicina Clínica; Barcelona.

Febrero 2008.

Título:

Valoración de la calidad nutricional de la dieta en gestantes sanas de Canarias

Assessment of nutritional quality in healthy pregnant women of the Canary Islands

Autor:

Adriana Ortiz-Andrellucchi^{1,3}, Almudena Sánchez-Villegas¹, Octavio Ramírez-García², Lluís Serra-Majem^{1,3}

Afiliaciones Institucionales:

¹Grupo de Investigación en Nutrición. Departamento de Ciencias Clínicas. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. España

²Departamento de Obstetricia y Ginecología. Hospital Universitario Materno-Infantil, Las Palmas de Gran Canaria. España.

³Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC)

Correspondencia:

Dr. Lluís Serra Majem

Departamento de Ciencias Clínicas. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

Apartado 550. CP: 35080. Las Palmas de Gran Canaria. España

Tel: +34 928 45 34 76 Fax: +34 928 45 34 75 Email: lserra@dcc.ulpgc.es

Introducción:

El estado nutricional de la madre es uno de los factores ambientales más relacionados con la evolución del embarazo y la salud del recién nacido. Durante esta etapa los aportes nutricionales de la gestante deben cubrir, además de sus propias necesidades, las correspondientes al feto en desarrollo y las derivadas de la síntesis de nuevos tejidos. El feto depende enteramente para su subsistencia del aporte de oxígeno y de los nutrientes transferidos desde la sangre a través de la placenta^{1,2}. Otros factores no nutricionales (actividad física, aislamiento social, tabaco, etc.) que inciden sobre la madre también influyen sobre el crecimiento del feto³.

Una ingesta nutricional adecuada durante el embarazo permite no sólo potenciar la salud de la mujer y prevenir enfermedades gestacionales, sino que también se relaciona con la salud del niño, principalmente con el peso del recién nacido, con la probabilidad de partos prematuros, con la aparición de algunas malformaciones congénitas e inclusive con la aparición de enfermedades crónicas en la vida adulta⁴⁻⁶. No obstante, la mayoría de los controles que se realiza actualmente a las embarazadas están orientados a conocer la evolución del peso durante el embarazo y generalmente no se le da mayor importancia a la composición de la dieta⁴.

Por ello, un índice que proporcione un resumen de la calidad de la dieta en las embarazadas, sería una herramienta de útil aplicación durante el control del embarazo para conocer la composición de la ingesta dietética.

El *Healthy Eating Index* (HEI) fue desarrollado por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) y aporta un resumen de la calidad de la dieta basado en diferentes aspectos de una dieta saludable⁷. Así, el USDA HEI fue diseñado para medir la calidad de la dieta evaluando su adherencia a las recomendaciones nacionales⁷. El HEI también se ha utilizado para evaluar la asociación en la calidad de la dieta con los factores de riesgo en enfermedades crónicas, dado que si se cumple el número mínimo de raciones diarias recomendadas para cada grupo de alimentos, la mayoría de la población tendría todos los nutrientes necesarios para mantener la

salud y prevenir las enfermedades crónicas relacionadas con la dieta⁸. Sin embargo, en el caso de las embarazadas evaluar la calidad de la dieta utilizando el HEI tendría como propósito prevenir el bajo peso al nacer, los defectos de nacimiento y favorecer una nutrición materna saludable evitando un aumento excesivo de peso^{8,9}.

El objetivo de nuestro estudio fue describir la composición de la dieta en una muestra de embarazadas sanas utilizando el HEI (validado previamente en mujeres embarazadas⁸) y comprobar si presentaban un nivel de suficiencia nutricional.

Pacientes y método:

En este estudio transversal participaron 103 mujeres de edades comprendidas entre los 18 y 40 años, que dieron a luz en el Hospital Universitario Materno-Infantil de Gran Canaria durante un período de un año (diciembre de 2002-diciembre de 2003) y que participaron posteriormente en un ensayo clínico durante el puerperio¹⁰. Fueron incluidas en el estudio mujeres que gozaban de un buen estado de salud general, bajo riesgo obstétrico y que dieron a luz niños sin ninguna patología. Fueron excluidas del estudio aquellas mujeres que padecían: diabetes, hipertensión, enfermedades autoinmunes, alergia, enfermedades renales o hepáticas, antecedentes de infecciones virales, bacterianas o por protozoos, como así también aquellas que tenían un embarazo múltiple o de alto riesgo, anemia (definida como hemoglobina menor al 10,5%) y que fumaban más de 10 cigarrillos diarios. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitario Materno-Infantil de Gran Canaria y todas las participantes fueron informadas del estudio y firmaron el consentimiento informado.

Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos

Para este estudio se administró el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos, validado previamente y utilizado en la Encuesta Nutricional de Canarias (ENCA)^{11,12}. El cuestionario fue administrado en el Hospital Universitario Materno-Infantil de Gran Canaria dentro de las 48 horas post-parto. Se realizó en una sola ocasión y se refería al consumo habitual de alimentos durante el embarazo. El cuestionario proporcionó información sobre el consumo de 84 alimentos (se añadieron 3 nuevos alimentos a los 81 contenidos en el cuestionario). Se le preguntó a las participantes cuántas veces y con qué frecuencia consumieron esos productos durante el embarazo, seleccionando una de las 5 categorías de frecuencia (desde “nunca” hasta “diario”). Las raciones utilizadas fueron raciones estándar (ej. 1 yogurt) o raciones habituales caseras (ej 1 vaso, 1 cucharada). La tabla de raciones estándar fue elaborada por dietistas locales en Gran Canaria utilizada en la ENCA^{11,12}. Para evaluar el consumo de diferentes alimentos, se

consideraron agrupados en grupos de alimentos (cereales, carnes, pescados, etc). Se calcularon el consumo medio diario de alimentos (g/día) y la ingesta media de nutrientes a través de las tablas de composición de alimentos españoles de Mataix y col.¹³, en su tercera edición, convenientemente revisada y ampliada para 121 alimentos adicionales registrados en la población canaria. Se comparó la ingesta media de nutrientes con la ingesta recomendada de energía y nutrientes para mujeres embarazadas publicada por Ortega RM¹⁴.

Healthy Eating Index (HEI)

La calidad de la dieta en mujeres embarazadas sanas fue evaluada utilizando el USDA HEI⁷. El HEI evalúa la calidad global de la dieta mediante la identificación de 10 componentes: 5 grupos de alimentos (cereales, vegetales, fruta, lácteos y carne, expresados en raciones/día), grasa total, grasa saturada, colesterol, sodio y variedad. El puntaje máximo posible del índice es 100. Cada uno de los 10 componentes posee un rango de puntaje de 0 a 10. Para los 5 primeros componentes (grupos de alimentos), las participantes que consumen el número de raciones diarias recomendadas para cada grupo de alimentos reciben un puntaje de 10, si no consumen alimentos de ese grupo reciben un puntaje de 0. Entre 0 y 10 el puntaje es calculado proporcionalmente⁷. El HEI para mujeres embarazadas fue calculado utilizando la ración diaria recomendada publicada en las Guías Dietéticas durante el embarazo por Ortega RM¹⁴. Para el componente 6 (grasa total), el puntaje 10 corresponde a aquellas participantes cuya ingesta de grasa total corresponde a $\leq 30\%$ de la ingesta energética total y el puntaje 0 a la ingesta de grasa total $\geq 45\%$. Entre estos dos puntos la puntuación es asignada proporcionalmente. El puntaje para grasa saturada fue calculado de forma semejante utilizando como puntos de corte $\leq 10\%$ para un puntaje 10 y $\geq 15\%$ para un puntaje 0. El puntaje para el colesterol y el sodio fue calculado en base a los miligramos consumidos. El punto de corte para el puntaje 10 fue 300 mg para el colesterol y 2400 mg para el sodio. El punto de corte correspondiente al puntaje 0 fue 450 mg y 4800 mg respectivamente. Para el cálculo del componente variedad se realizó una

modificación sobre el realizado por el USDA HEI. Kennedy y col.⁷ calcularon este ítem analizando la información de un registro dietético de 3 días, mientras nosotros estudiamos la variedad de la dieta utilizando la información del consumo semanal de diferentes alimentos (cereales, legumbres, carnes, huevos, pescados, frutas, verduras y lácteos). Para determinar el límite superior e inferior de este componente se estableció como referencia los puntos de corte determinados por Kennedy y col.⁷ A partir de estos datos extrapolamos esta información para obtener los puntos de corte para un período de 7 días de observación, como así también se tuvo en cuenta la exploración de los datos sobre el consumo y la consulta con investigadores. De esta forma, se establecieron los siguientes puntos de corte: se le asignó un puntaje 0 si la participante consumió ≤ 14 alimentos diferentes durante un período de 7 días y un puntaje 10 le correspondió a aquellas embarazadas cuyo consumo fue de ≥ 37 alimentos. Todos los puntajes intermedios fueron calculados de forma proporcional⁷. No incluimos en este estudio la suplementación con vitaminas y minerales, dado que este índice intenta reflejar sólo la ingesta proveniente de la dieta.

Otras variables

Se recogieron también las siguientes variables: semanas de gestación al parto, peso anterior al embarazo, peso anterior al parto, talla (estos datos fueron obtenidos de la libreta sanitaria de la paciente). El cálculo del índice de masa corporal (IMC) anterior al embarazo fue realizado mediante la fórmula siguiente: $IMC = \text{peso en kilogramos} / \text{cuadrado de la talla en metros}$. Los valores del IMC se clasificaron según criterios recomendados por la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO)¹⁵ en: delgado ($IMC < 18,5 \text{ kg/m}^2$), normopeso ($IMC 18,5-24,9 \text{ kg/m}^2$), sobrepeso ($IMC 25-29,9 \text{ kg/m}^2$) y obesidad ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$). En cuanto a la edad se clasificó a las participantes en los siguientes grupos: 19-24 años, 25-29 años, 30-34 años y 35-40 años. Por otro lado se registró el nivel educativo (primario/EGB, FP/BUP/COU, universitario), la situación laboral (ama de casa, activa jornada continua, activa jornada partida, activa jornada a

turnos, en paro < 6 meses, en paro \geq 6 meses) y número de hijos (primípara o múltipara). Respecto a la edad al nacimiento del primer hijo se clasificó a las participantes en los siguientes grupos: < 20 años, 20-24 años, 25-30 años y > 30 años. El consumo de tabaco se categorizó como no fumadoras: si no habían fumado nunca o que no habían fumado diariamente durante \geq 6 meses en el pasado; ex-fumadoras: si no fumaron durante el embarazo, pero fumaron regularmente en el pasado; fumadoras: aquellas mujeres que fumaron como máximo 10 cigarrillos al día durante el embarazo. Se recogió información relativa a la actividad física antes y durante el embarazo: ejercicio físico antes del embarazo (nunca, diariamente, 2-3 veces x semana, 1 vez x semana), caminata diaria durante el embarazo (de 0 a media hora, de media a 1 hora, o más de 1 hora) y tipo de actividad diaria durante el embarazo (sedentaria: básicamente sentada y camina poco; moderada: camina pero no realiza esfuerzos vigorosos; activa: camina y realiza esfuerzos vigorosos). Por último se categorizó en "sí" o "no" la variable asistió a gimnasia pre-parto.

Análisis estadístico

El análisis estadístico descriptivo de las variables consideradas se realizó mediante el estudio de las proporciones de las variables cualitativas y de las medidas de tendencia central (media) y medidas de dispersión (desviación estándar) en el caso de las variables cuantitativas. Se calcularon percentiles para conocer la distribución de la población según la ingesta de energía y nutrientes. Los datos se analizaron con el paquete estadístico SPSS versión 13.0 para entorno Windows.

Resultados

En la tabla 1 se muestra la descripción de las principales características sociodemográficas de la muestra. La edad de las embarazadas estaba comprendida entre 19 y 40 años con una media de 29,7 años. El incremento medio de peso durante el embarazo fue de 13,1 Kg y el tiempo medio de semanas de gestación al momento del parto de 39,9 semanas. Se muestra la distribución del IMC antes del embarazo y se observa que un 27,9% de las mujeres presentaban sobrepeso u obesidad antes del embarazo. El 76,7% de las mujeres del estudio eran primíparas y entre las multíparas un 16,7% no alimentaron con lactancia materna a sus hijos anteriores. En cuanto a la presencia de vómitos durante la gestación, el 61,2% de las participantes no presentaron esta sintomatología, mientras que en el 22,3% de los casos los vómitos persistieron durante el primer trimestre del embarazo, en el 7,8% persistieron hasta el segundo trimestre y un 8,7% de las mujeres del estudio presentaron vómitos durante toda la gestación. La distribución de la población de estudio según hábito tabáquico muestra que el 18,4% de las mujeres dejaron de fumar durante el embarazo.

En la tabla 2 se observa el consumo medio diario durante el embarazo de los distintos grupos de alimentos, advirtiéndose un elevado consumo diario de lácteos, frutas, verduras y bebidas azucaradas. Por otra parte, se observó una disminución en el consumo de carnes, grasas, salsas, patatas y embutidos a medida que aumentaba la edad. Por el contrario, se observó que con el aumento de la edad, aumentaba el consumo de otros alimentos como el pescado, los frutos secos, la leche, el queso, el yogur y la bollería (datos no mostrados).

El consumo medio de energía y nutrientes durante la gestación y su distribución en el total de la muestra se expone en el tabla 3. Al comparar los datos de nuestra población con la ingesta recomendada de energía y nutrientes para la segunda mitad del embarazo en mujeres de 20 a 39 años¹⁴ se observó que un importante porcentaje de gestantes no alcanzaron el 50% de la ingesta recomendada de hierro, folatos y vitamina D (36,9%, 26,2% y 38,8% respectivamente).

Sin embargo, más de un 30% de la población superó el 200% de la ingesta recomendada para las proteínas, tiamina, niacina, riboflavina, vitaminas A y C (tabla 4).

La tabla 5 muestra el puntaje total y de cada componente del HEI. El puntaje del índice fue de 54,9. Esta puntuación se aleja de la puntuación óptima de ≥ 80 requerida para calificar como buena la calidad de la dieta de las embarazadas de nuestra población de estudio. En cuanto a la puntuación media de los 5 primeros componentes del índice, se observó que el consumo de cereales se encontraba por debajo de las raciones diarias recomendadas para embarazadas (7-8 raciones/día), siendo el consumo de vegetales, frutas, lácteos, y carnes superior a las recomendaciones (4-5 raciones/día, 3 raciones/día, 3-4 raciones/día y 2-3 raciones/día, respectivamente).

Al observar la distribución de la población según el HEI por grupos de edad (figura 1), advertimos que el 50% de las embarazadas con edad comprendida entre 19-24 años obtuvo un puntaje entre 51-60. En el puntaje 71-80, máxima puntuación alcanzada por las mujeres de nuestro estudio, se distingue que el porcentaje más alto de embarazadas (13,3%) correspondió al grupo de edad comprendido entre 25-29 años.

Discusión

A lo largo del embarazo, la mujer gestante incrementa sus necesidades energéticas, de proteínas y de la mayor parte de minerales y vitaminas. Durante este periodo deben ser cubiertas las necesidades del feto por su crecimiento con formación de nuevos tejidos, así como para mantener sus propias funciones fisiológicas⁵. Esto implicaría un cambio de las características de su dieta para compensar los mayores requerimientos con un aumento de la dieta habitual, siempre que ésta esté adecuadamente equilibrada o recibir suplementación de algunos nutrientes¹⁶.

La valoración nutricional de la dieta en las gestantes de este estudio mostró un patrón de consumo de alimentos con una ingesta importante de lácteos como fuente de energía y nutrientes, incluidas las grasas saturadas, el calcio, el sodio y la riboflavina. Se advirtió también un importante consumo de frutas, verduras y hortalizas, que constituyen una fuente importante de vitamina C, fibras y folatos.

Estos resultados, como los de otros autores^{4,17}, muestran una dieta habitual en embarazadas suficiente en calorías. Por otra parte se observa que la dieta de las embarazadas presenta un elevado contenido en grasas (42,4%) alejado del 30-35% recomendado, con un predominio de ácidos grasos saturados (14,7%; recomendado <10%) y también con una ingesta media diaria de colesterol (441,1 mg) superior a las recomendaciones (<300 mg/día)¹⁸, lo que refleja un mayor consumo de carnes, lácteos con elevado contenido graso y embutidos. También se detecta que el contenido de carbohidratos es inferior al recomendado (44,9% frente al 55% recomendado), lo que atribuimos a un consumo bajo de cereales y legumbres. Estos datos son semejantes a los obtenidos por Irlés y col.¹⁷ en una población de embarazadas de Andalucía.

En cuanto al contenido de micronutrientes, se observa que un importante porcentaje de gestantes no alcanzaron el 50% de la ingesta recomendada de hierro, folatos y vitamina D (36,9%, 26,2% y 38,8% respectivamente)¹⁴. Estas deficiencias también fueron descritas por

otros autores^{19,20} y además fueron puestas de manifiesto en la Encuesta Nutricional de Canarias en la cual una de sus conclusiones afirma que son muy relevantes las ingestas inadecuadas de vitamina A, D, E, folatos, hierro y magnesio en la población Canaria¹². Es necesario mencionar que la ENCA se realizó en población general, por lo que estas deficiencias adquieren mayor relevancia cuando las analizamos durante el período de gestación.

El HEI en nuestra población de estudio alcanzó un puntaje de 54,9. Esta puntuación se aleja de la puntuación óptima de ≥ 80 requerida para calificar como buena la calidad de la dieta. Ninguna de las mujeres del estudio mostró un índice >80 , mientras que el 65% de las gestantes presentaron un índice que osciló entre 50-80, por lo que se considera que consumieron una dieta que necesitaba ser mejorada y el 35% restante tenían una dieta considerada pobre (HEI <50).

Los datos obtenidos en el presente estudio revelaron una calidad de dieta menor a los datos observados por Pick y col.⁸ en una población de embarazadas americanas (HEI medio= 75.0; D.E.= 0.99). En este estudio, el 21% de las embarazadas presentaron una calidad de dieta buena y el 79% de las embarazadas tenían una dieta que debía ser mejorada, pero, sin embargo, no se detectaron embarazadas con dietas pobres. Comparando la puntuación obtenida en cada ítem del índice, nuestros datos fueron semejantes a los obtenidos por Pick y col.⁸ para vegetales, frutas, carnes y variedad. Sin embargo, se obtuvo una puntuación superior para el caso de lácteos y menor para el resto de los ítems (cereales, grasa total, grasa saturada, colesterol y sodio).

Para evaluar la dieta habitual en las embarazadas de este estudio, utilizamos un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos. Si bien este instrumento aporta una información nutricional que tiende a sobrestimar los consumos medios²¹, en investigaciones previas se ha demostrado que el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos es un instrumento adecuado para obtener estimaciones fiables de la ingesta de energía y nutrientes durante el embarazo^{22,23}.

Según nuestro conocimiento este es el primer estudio que se realiza en población española donde se evalúa la calidad de la dieta de la mujer gestante utilizando el *Healthy Eating Index*. El HEI representa una herramienta útil para evaluar la calidad de la dieta, analizando la adherencia de la misma a las recomendaciones de las guías alimentarias nacionales. Sin embargo, no permite discriminar el riesgo de déficit en micronutrientes, sobre todo, en aquellos que son de especial interés en la dieta de las gestantes.

El yodo representa uno de los micronutrientes de especial interés en la dieta de la embarazada, dado que la deficiencia del mismo constituye uno de los principales problemas mundiales de salud de origen nutricional^{24,25}. Es bien sabido que una deficiencia leve o moderada de este micronutriente representa un riesgo leve para la salud de la población adulta, algo mayor en la edad infantil y puede significar un riesgo importante para las mujeres embarazadas por sus mayores necesidades de yodo y por el importante riesgo potencial para el feto que este déficit puede representar. Como consecuencia, la Organización Mundial de la Salud estableció que en la mujer durante la gestación y la lactancia la ingesta de yodo debería superar los 200 μg diarios²⁴. Una limitación de este estudio es que no pudimos analizar la ingesta de yodo proveniente de la dieta, debido a que la tabla de composición de alimentos utilizada no aporta información sobre este micronutriente.

Otra de las posibles limitaciones del presente estudio es que se trata de una muestra no representativa lo cual no hace posible extrapolar los resultados a las mujeres gestantes de Canarias. Sin embargo, debe señalarse que las mujeres que participaron en la evaluación fueron mujeres voluntarias participantes en un posterior ensayo clínico¹⁰ y seguramente presenten un grado de motivación y de conciencia sobre la salud mayor del que cabría esperar en población general. De esta manera, es posible que los resultados que se obtendrían con respecto a la adhesión a una dieta saludable serían incluso peores si consideráramos la población general de mujeres canarias gestantes. Pese a todo, son necesarias futuras investigaciones involucrando un

mayor número de embarazadas, teniendo en cuenta además a los grupos vulnerables de la población como son las adolescentes embarazadas y las mujeres inmigrantes.

En conclusión, los resultados muestran la necesidad del consejo dietético en las mujeres gestantes de nuestro medio para mejorar la calidad de la dieta y la suplementación farmacológica para suplir principalmente la carencia dietética de hierro y folatos. Es importante destacar que la mujer durante la gestación se encuentra más receptiva a adoptar estilos de vida más saludable⁴. Por ello, el consejo dietético en esta población podría ser una buena estrategia a corto y largo plazo para favorecer la adopción de hábitos alimentarios saludables en el entorno familiar.

Agradecimientos

A las madres y familias que participaron en este estudio. Al personal sanitario del Hospital Universitario Materno Infantil de Canarias, por ayudarnos a poder llevar a cabo esta investigación. Estudio financiado por Danone S.A.

Resumen:

Fundamento y objetivos: describir la calidad de la dieta en embarazadas sanas de Canarias utilizando el *Healthy Eating Index (HEI)*.

Sujetos y método: estudio transversal de 103 mujeres entre los 18 y 40 años que dieron a luz en el Hospital Universitario Materno-Infantil de Gran Canaria. Se estimó el consumo de alimentos, macro y micronutrientes mediante un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos utilizado en la Encuesta Nutricional de Canarias (ENCA). Se calculó el HEI que incluye 10 componentes, siendo el puntaje máximo posible del índice de 100.

Resultados: el puntaje del índice fue de 54,9. Esta puntuación se aleja de la puntuación óptima de ≥ 80 requerida para calificar como buena la calidad de la dieta de las embarazadas de nuestra población de estudio. La puntuación media de los 5 primeros componentes del índice mostró que el consumo de cereales fue inferior al número de raciones diarias recomendadas, mientras que el consumo de vegetales, frutas, lácteos y carnes superó las recomendaciones. Además, se observó que un importante porcentaje de gestantes no alcanzaron el 50% de la ingesta recomendada de hierro, folatos y vitamina D (36,9%, 26,2% y 38,8% respectivamente). Sin embargo, más de un 30% de la población superó el 200% de la ingesta recomendada para las proteínas, tiamina, niacina, riboflavina, vitaminas A y C.

Conclusiones: es necesario el consejo dietético para mejorar la calidad de la dieta durante el embarazo y la suplementación principalmente con hierro y folatos.

Palabras claves: Gestación. Calidad de la dieta. *Healthy Eating Index*. Hábitos alimentarios.

Ingesta de nutrientes

Abstract:

Background and objective: to describe the quality of the diet of healthy pregnant women of the Canary Islands using the Healthy Eating Index (HEI).

Subjects and method: cross-sectional study based on 103 women aged 18-40 years, who gave birth at the University Hospital Materno-Infantil of Gran Canaria. Food consumption and macro and micronutrient intake were estimated using a food frequency questionnaire used in the Canary Island Nutrition Survey (ENCA) and the HEI was calculated. This index includes 10 components and the maximum possible score of the index is 100 points.

Results: the score of the index was 54,9. This result remains below the optimum score of ≥ 80 , which is considered good the diet quality of pregnant women in our study population. The average score of the first 5 components of the index showed that cereal consumption was below the daily portions recommended for pregnant women, whereas vegetables, fruit, milk and meat consumption surpassed the recommendations. A significant number of pregnant women did not reach the 50% of the recommendations for iron, folate and vitamin D intake (36,9%, 26,2% and 38,8%, respectively). At least 30% of the population exceeded 200% of the recommendations for proteins, thiamin, niacin, riboflavin, vitamin C and vitamin A.

Conclusions: dietary advice for improving the diet quality during pregnancy and the supplementation of mainly iron and folate are necessary.

Key words: Pregnant women. Diet quality. Healthy Eating Index. Dietary habits. Nutrient intake

Referencias Bibliográficas

1. Battablia FC, Meschia G. Fetal nutrition. *Ann Rev Nutr*, 1988;8:43-61.
2. Jackson AA, Robinson SM. Dietary guidelines for pregnancy: a review of current evidence. *Public Health Nutr* 2001;4:625-30.
3. Van der Berg BJ. Maternal variables affecting fetal growth. *Am J Clin Nutr*, 1981; 34:722-726.
4. Arija V, Cucó G, Vila J, Iranzo R, Fernández-Ballart J. Consumo, hábitos alimentarios y estado nutricional de la población de Reus en la etapa preconcepcional, el embarazo y el posparto. *Med Clin (Barc)* 2004;123:5-11.
5. Anderson AS. Symposium on 'nutritional adaptation to pregnancy and lactation'. Pregnancy as a time for dietary change?. *Proc Nutr Soc* 2001;60:497-504.
6. Ortega RM, Gaspar MJ, Moreiras O. Dietary assessment of a pregnant Spanish women group. *Int J Vitam Nutr Res* 1994;64:130-4.
7. Kennedy ET, Ohls J, Carlson S, Fleming K. The Healthy Eating Index: design and applications. *J Am Diet Assoc* 1995;95:1103-8.
8. Pick ME, Edwards M, Moreau D, Ryan EA. Assessment of diet quality in pregnant women using the Healthy Eating Index. *J Am Diet Assoc* 2005;105:240-6.
9. Kaiser LL, Allen L; American Dietetic Association. Position of the American Dietetic Association: nutrition and lifestyle for a healthy pregnancy outcome. *J Am Diet Assoc* 2002;102:1479-90.
10. Ortiz-Andrellucchi A, Sánchez-Villegas A, Rodríguez-Gallego C, Lemes A, Molero T, Soria A, et al. Immunomodulatory effects of the intake of fermented milk with *Lactobacillus casei* DN114001 in lactating mothers and their children [en prensa]. *Br J Nutr* 2008.
11. Serra Majem L, Ribas Barba L, Armas Navarro A, Alvarez León E, Sierra A, y el Equipo de investigación de ENCA. Ingesta de energía y nutrientes y riesgo de ingestas inadecuadas en Canarias (1997-98). *Arch Latinoam Nutr* 2000;50 (Supl 1): 7-22.

12. Serra Majem L, Cabrera León A, Sierra López A. Conclusiones de la Encuesta de Nutrición de Canarias (1997-98). Bases para una política de nutrición en Canarias. Arch Latinoam Nutr 2000;50: (Supl 1) 62-70.
13. Mataix J, Mañas M, Llopis J, Martínez de Victoria E. Tabla de composición de alimentos españoles. Granada: Universidad de Granada; 1993.
14. Ortega RM. Dietary guidelines for pregnant women. Public Health Nutr 2001;4:1343-6.
15. Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad. Consenso SEEDO'2000 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. Med Clin (Barc) 2000;115:587-97.
16. Cárcel C, Quiles J, Rico B, Sanchos T. Adecuación de la ingesta nutricional de embarazadas de segundo y tercer trimestre. Rev Esp Nutr Comunitaria 2005;11:136-144.
17. Irlés Rocamora JA, Iglesias Bravo EM, Avilés Mejías S, Bernal López E, de Valle Galindo PB, Moriones López L, et al. Valor nutricional de la dieta en embarazadas sanas. Resultados de una encuesta dietética en gestantes. Nutr Hosp 2003;18:248-52.
18. Serra-Majem L, Aranceta J; SENC Working Group on Nutritional Objectives for the Spanish Population. Spanish Society of Community Nutrition. Nutritional objectives for the Spanish population. Consensus from the Spanish Society of Community Nutrition. Public Health Nutr 2001;4:1409-13.
19. Erkkola M, Karppinen M, Järvinen A, Knip M, Virtanen SM. Folate, vitamin D, and iron intakes are low among pregnant Finnish women. Eur J Clin Nutr 1998;52:742-8.
20. Giddens JB, Krug SK, Tsang RC, Guo S, Miodovnik M, Prada JA. Pregnant adolescent and adult women have similarly low intakes of selected nutrients. J Am Diet Assoc 2000;100:1334-40.

21. Serra Majem L, Morales D, Domingo C, Caubet E, Ribas L, Nogués RM. Comparación de dos métodos de valoración de la ingesta de alimentos y nutrientes: recordatorio de 24 horas y cuestionario de frecuencia semicuantitativo. *Med Clin (Barc)* 1994;103:652-6.
22. Robinson S, Godfrey K, Osmond C, Cox V, Barker D. Evaluation of a food frequency questionnaire used to assess nutrient intakes in pregnant women. *Eur J Clin Nutr* 1996;50:302-8.
23. Brown JE, Buzzard IM, Jacobs DR Jr, Hannan PJ, Kushi LH, Barosso GM, et al. A food frequency questionnaire can detect pregnancy-related changes in diet. *J Am Diet Assoc* 1996;96:262-6.
24. Foz M. La deficiencia de yodo en España: un problema todavía no resuelto. *Med Clin (Barc)* 2004;122:459-60.
25. Berbel P, Obregón MJ, Bernal J, Escobar del Rey F, Morreale de Escobar G. Iodine supplementation during pregnancy: a public health challenge. *Trends Endocrinol Metab* 2007;18:338-43.

Tabla 1. Características generales de las mujeres estudiadas

Edad (años) (%)		
	19-24	15,4
	25-29	28,8
	30-34	40,4
	35-40	15,4
Semanas de gestación al parto ^a		39,9 (1,3)
Peso anterior al embarazo (kg) ^a		61,1 (9,6)
Incremento de peso con el embarazo (kg) ^a		13,1 (3,9)
IMC anterior al embarazo (%)		
	< 18,5	1,9
	18,5-24,9	70,2
	25-29,9	21,2
	≥ 30	6,7
Nivel educativo (%)		
	primario/EGB	21,4
	FP/BUP/COU	43,7
	universitario	35,0
Situación laboral (%)		
	ama de casa	9,7
	activa jornada partida	18,4
	activa jornada continua	32,0
	activa jornada a turnos	23,3
	paro < 6 meses	8,7
	paro ≥ 6 meses	7,8
Número de hijos (%)		
	primíparas	76,7
	múltiparas	23,3
Edad al nacimiento del primer hijo (%)		
	<20	4,9
	20-24	17,5
	25-30	40,8
	>30	36,9
Hábito tabáquico durante el embarazo (%)		
	no fumadora	53,4
	ex-fumadora	41,7
	fumadora	4,9
Ejercicios físicos antes del embarazo (%)		
	nunca	55,3
	diariamente	13,6
	2-3 veces x semana	27,2
	1 vez x semana	3,9
Asistió a gimnasia pre-parto (%)		83,5
Caminata diaria durante el embarazo (%)		
	0 a media hora	53,4
	media a 1 hora	39,8
	más de 1 hora	6,8
Tipo de actividad diaria durante el embarazo (%)		
	sedentaria	30,1
	moderada	44,7
	activa	25,2

^aMedia (DE); IMC: índice de masa corporal; Sedentaria: básicamente sentada y camina poco; Moderada: camina pero no realiza esfuerzos vigorosos; Activa: camina y realiza esfuerzos vigorosos.

Tabla 2. Consumo medio diario durante el embarazo de los distintos grupos de alimentos

Alimento	Media	DE	P ₅	P ₂₅	P ₅₀	P ₇₅	P ₉₅
Carnes	66,9	39,7	16,5	38,3	59,4	92,6	152,7
Huevo	23,9	16,4	8,6	17,1	21,4	25,7	60,0
Pescado	56,6	34,5	10,9	33,4	49,8	70,2	124,9
Leche	536,7	322,9	0	337,5	450,0	675,0	1125,0
Queso	71,3	68,0	0	25,7	47,1	94,3	220,0
Yogur	160,1	111,7	0,8	71,4	125,0	250,0	375,0
Otros lácteos	72,0	72,7	0	16,2	53,4	104,7	204,9
Cereales	133,3	44,1	71,8	98,4	129,5	158,3	214,5
Frutas	663,5	391,6	211,3	383,9	589,0	849,6	1468,4
Verduras y hortalizas	481,2	257,4	149,5	276,8	432,1	654,9	931,5
Legumbres	30,6	25,3	1,1	12,9	25,7	38,6	90,0
Frutos secos	6,7	9,0	0	0,11	2,2	9,6	27,0
Patatas	47,8	30,5	13,3	28,6	42,9	64,3	114,3
Embutidos	28,5	27,7	1,3	11,4	22,9	40,0	61,7
Bollería	10,8	16,5	0	0	7,1	14,3	50,0
Dulces	64,1	44,3	6,6	31,6	57,8	88,7	151,7
Aceites	32,9	18,7	10,0	20,0	30,0	45,0	64,0
Grasas	6,7	6,2	0	1,6	4,3	12,0	13,6
Salsas	6,0	9,9	0	1,1	3,6	7,2	19,4
Bebidas azucaradas	317,9	306,9	0	142,8	228,6	400,0	1085,7
Bebidas alcohólicas	6,8	19,8	0	0	0	2,5	54,3

Consumo en g o cc/persona/día; DE: desviación estándar; P: percentil

Tabla 3. Ingesta media diaria de energía y nutrientes

	Media	DE	P ₅	P ₂₅	P ₅₀	P ₇₅	P ₉₅
Energía (kcal.)	2808,3	773,8	1854,3	2257,4	2708,7	3216,1	4534,7
MACRONUTRIENTES							
Glúcidos (g)	313,0	94,5	208,3	237,2	291,6	366,9	520,2
(% VCT)	44,9	7,4	33,9	39,1	45,0	49,9	57,3
Proteínas (g)	106,8	29,6	70,0	83,4	100,7	127,7	166,9
(% VCT)	15,4	2,7	11,6	13,5	15,1	16,5	21,1
Lípidos (g)	133,9	46,3	60,0	104,9	131,8	155,5	233,1
(% VCT)	42,4	7,1	27,4	37,6	42,9	48,1	52,3
AGS (g)	47,2	21,2	21,6	31,8	42,8	60,0	90,4
AGMI (g)	56,3	20,0	22,5	43,7	54,5	68,9	98,7
AGPI (g)	15,6	5,4	7,6	11,6	15,3	18,7	26,5
Colesterol (mg)	441,1	162,8	249,5	331,9	406,5	508,8	810,4
Fibra (g)	28,7	10,6	14,9	20,9	27,2	33,9	51,1
Alcohol (g)	0,4	0,9	0	0	0	0,2	2,7
MINERALES							
Calcio (mg)	2055,9	756,0	1097,6	1483,3	1886,8	2472,9	3704,5
Hierro (mg)	16,8	4,5	10,4	13,3	16,7	19,5	25,3
Magnesio (mg)	481,8	142,6	293,6	366,5	456,8	576,1	798,9
Sodio (mg)	4685,4	1669,1	2379,3	3715,9	4491,1	5261,5	8469,1
Potasio (mg)	4973,2	1484,1	3021,6	3754,9	4715,8	5903,6	7787,4
Fósforo (mg)	2293,9	721,1	1368,5	1735,7	2057,2	2769,6	3576,4
VITAMINAS							
Tiamina (mg)	1,8	0,5	1,1	1,4	1,7	2,2	2,7
Riboflavina (mg)	3,2	1,1	1,8	2,4	2,9	3,8	5,4
Niacina (mg)	31,1	9,8	17,1	24,0	29,6	38,1	49,1
Folatos (µg)	419,0	156,6	210,1	296,9	411,2	511,8	660,6
Vit. B6 (mg)	2,9	0,9	1,7	2,3	2,7	3,4	4,7
Vit. B12 (µg)	13,4	9,6	5,8	8,5	10,7	14,4	27,7
Vit. C (mg)	341,7	175,3	120,1	238,42	310,4	421,1	655,8
Vit. A (µg)	1880,6	1088,2	797,1	1147,0	1632,8	2295,6	3952,8
Vit. D (µg)	7,2	5,0	1,8	3,4	6,1	9,9	17,1
Vit E (mg)	15,6	6,1	7,8	10,9	14,8	19,8	26,0

VCT: valor calórico total; AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; DE: desviación estándar; P: percentil

Tabla 4. Porcentaje de mujeres con ingesta inferior o superior a la ingesta recomendada de energía y nutrientes para la segunda mitad del embarazo en mujeres de 20 a 39 años

	Ingesta* Recomendada	Porcentaje de mujeres						
		<30% IR	<50% IR	<66% IR	<75% IR	<100% IR	>150% IR	>200% IR
Energía (kcal.)	2550	-	-	2,9	6,8	43,7	10,7	1,0
Proteínas (g)	56	-	-	-	-	1,9	72,8	36,9
MINERALES								
Calcio (mg)	1400	-	-	1,9	1,9	21,4	39,8	14,6
Hierro (mg)	30	1,0	36,9	77,7	87,4	100	-	-
Magnesio (mg)	450	-	-	4,9	12,6	47,6	10,7	1,0
VITAMINAS								
Tiamina (mg)	1,0	-	-	-	-	-	69,9	34,0
Riboflavina (mg)	1,6	-	-	-	-	1,9	74,8	44,7
Niacina (mg)	17	-	-	-	1,0	4,9	69,9	34,0
Folatos (µg)	600	1,9	26,2	45,6	63,1	88,3	1,0	-
Vit. B6 (mg)	2,0	-	-	1,0	1,0	12,6	37,9	13,6
Vit. B12 (µg)	2,2	-	-	-	-	-	100	100
Vit. C (mg)	80	-	1,0	1,0	1,0	1,0	95,1	87,4
Vit. A (µg)	800	-	-	-	-	4,9	73,8	52,4
Vit. D (µg)	10	18,4	38,8	55,3	61,2	78,6	7,8	1,0
Vit E (mg)	15	-	1,9	19,4	26,2	51,5	13,6	1,9

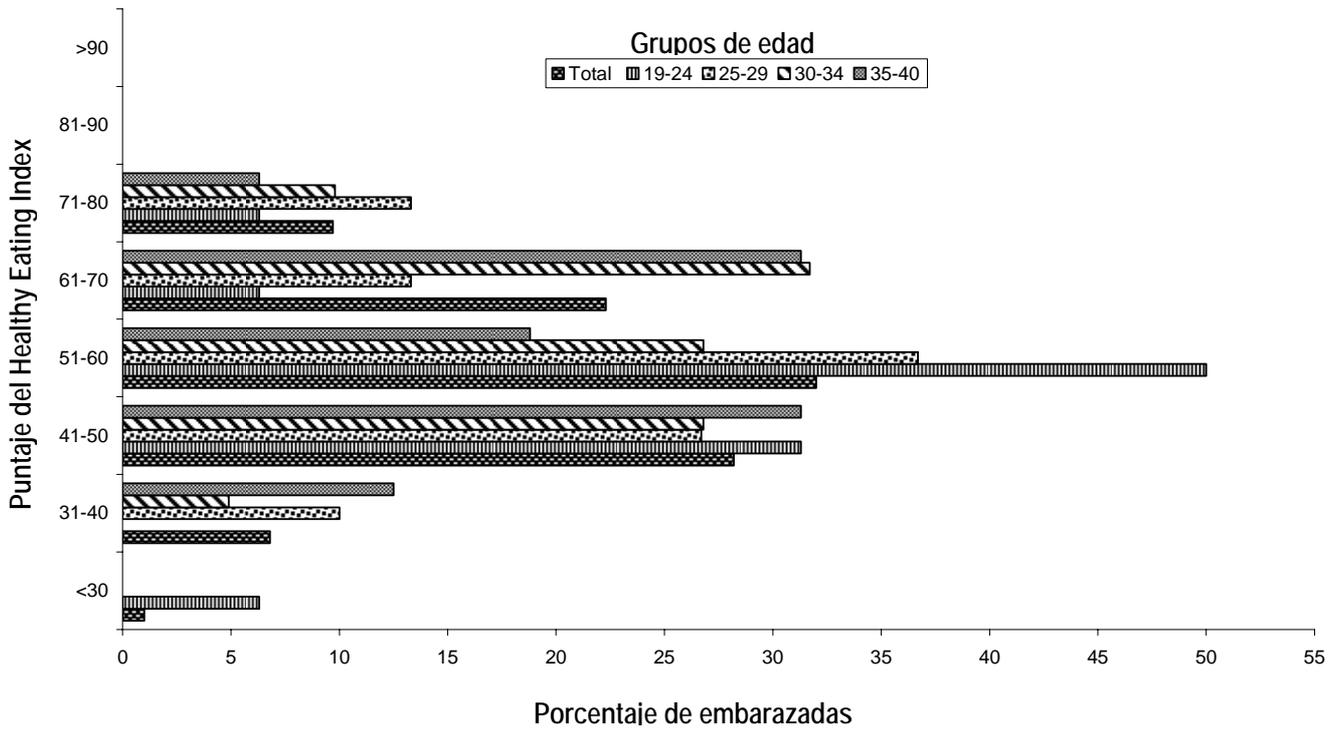
IR: ingesta recomendada; * Datos obtenidos de Ortega RM¹⁴.

Tabla 5. Puntaje total y de cada componente del *Healthy Eating Index* en embarazadas sanas

HEI ítems	Media (DE)	Rango	% Puntaje = 0	% Puntaje = 10
Cereales	3,5 (1,4)	0-8	1	0
Vegetales	6,9 (2,6)	2-10	0	30,1
Frutas	8,5 (2,3)	1-10	0	59,2
Lácteos	9,3 (1,7)	0-10	1	78,6
Carnes ^a	8,1 (2,0)	3-10	0	41,7
Grasa total	2,7 (3,0)	0-10	36,9	5,8
Grasa saturada	3,4 (3,8)	0-10	41,7	12,6
Colesterol	3,9 (3,9)	0-10	37,5	18,4
Sodio	2,8 (3,1)	0-10	37,9	4,9
Variedad	5,7 (1,9)	1-10	0	1,9
Total	54,9 (10,9)	29-79		

DE: desviación estándar; ^a Incluye huevos, frutos secos, y legumbres

Figura 1. Distribución de la población según el *Healthy Eating Index* por grupos de edad



ANEXO VII

(PRESENTACIONES A CONGRESOS)

- **Autores:** Adriana Ortiz-Andrellucchi, Luis Peña-Quintana, Magdalena Villanueva, Carlos Rodríguez-Gallego, José M Cobo, Luis Serra-Majem.
Título: Efectos de la ingesta de leche fermentada con *Lactobacillus casei* durante el puerperio sobre la madre y el niño lactante.
Tipo de participación: Comunicación oral
Congreso: 56 Congreso de la Asociación Española de Pediatría
Lugar: Barcelona, España
Fecha: 7 de junio de 2007
- **Autores:** Adriana Ortiz-Andrellucchi, Magdalena Villanueva, Carlos Rodríguez-Gallego, José M Cobo, Luis Serra-Majem, Luis Peña-Quintana
Título: Niveles de componentes inmunonutricionales en leche materna.
Tipo de participación: Póster
Congreso: 56 Congreso de la Asociación Española de Pediatría
Lugar: Barcelona, España
Fecha: 7 de junio de 2007
- **Autores:** Ortiz-Andrellucchi A, Villanueva Cabrera M, Ramírez García O, Serra Majem L, Peña Quintana L.
Título: Intervención en promoción de la lactancia materna en Gran Canaria.
Tipo de participación: Póster
Congreso: IV Congreso Español de Lactancia Materna
Lugar: Puerto de la Cruz, Tenerife. España.
Fecha: 27 de septiembre de 2006
- **Autores:** Ortiz-Andrellucchi A, Sánchez Villegas A, Rodríguez Gallego C, Molero Labarta T, Soria López A, Ramírez García O, Peña Quintana L, Serra Majem L.
Título: Niveles séricos de hierro y número de células inmunes en mujeres lactantes de Gran Canaria.
Tipo de participación: Póster
Congreso: IV Congreso Español de Lactancia Materna
Lugar: Puerto de la Cruz, Tenerife. España.
Fecha: 27 de septiembre de 2006
- **Autores:** Ortiz-Andrellucchi A, Rodríguez-Gallego C, Ramírez García O, Peña Quintana L, Cobo JM, Serra Majem L.
Título: Evaluación de la inmunomodulación durante el puerperio con la ingesta de leche fermentada con *Lactobacillus casei*.
Tipo de participación: Comunicación oral (**Accésit al Primer Premio a la mejor Comunicación Oral en castellano**)
Congreso: I World Congress of Public Health Nutrition. VII Congreso de la SENC.
Lugar: Barcelona. España.
Fecha: 29 de septiembre de 2006
- **Autores:** Ortiz-Andrellucchi A, Rodríguez EM^a, Díaz C, Serra Majem L.
Título: Concentraciones séricas de minerales en mujeres después del parto
Tipo de participación: Póster
Congreso: I World Congress of Public Health Nutrition. VII Congreso de la SENC.
Lugar: Barcelona. España.
Fecha: 28 de septiembre de 2006

- **Autores:** Ortiz-Andrellucchi A, Rodríguez-Gallego C, Saavedra Santana P, Ramírez García O, García Hernández JA, Cobo JM, Serra Majem L.
Título: Evaluación de la inmunomodulación durante el puerperio con la ingesta de leche fermentada con *Lactobacillus casei*.
Tipo de participación: Póster
Congreso: XXXI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Inmunología
Lugar: Córdoba. España.
Fecha: 10 al 13 de mayo de 2005
- **Autores:** Ortiz-Andrellucchi A, Rodríguez-Gallego C, Villanueva M, Limiñana JM, Cobo JM, Serra Majem L
Título: Perfil Inmunológico del calostro en una muestra de población canaria
Tipo de participación: Póster
Congreso: III Congreso Español de Lactancia Materna
Lugar: Santander. España.
Fecha: 30 de septiembre 1 y 2 de octubre de 2004
- **Autores:** Adriana Ortiz Andrellucchi, Lluís Serra Majem en nombre del equipo de investigación Actimel-Puerperio
Título: Evaluación de la Inmunomodulación durante el puerperio con la ingesta de leche fermentada con *Lactobacillus casei*.
Tipo de participación: Ponencia
Congreso: VI Congreso de la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria
Lugar: Ibiza. España.
Fecha: 25 de Septiembre de 2004