

# Archivos Latinoamericanos de Nutrición

## Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición

VOL 69	MARZO 2019	Nº 1
Contenido		
		Páginas
<b>Editorial</b>		
<i>Rafael Figueredo Grijalba</i> .....		1
<b>Efectos de la incorporación de la <i>Moringa oleifera</i> en las bebidas de frutas sobre parámetros clínicos que miden la deficiencia de hierro y anemia en niños</b> <i>Karen Piedad Martínez Marciales, Javier Andrés Soto, Jhoalmis Sierra Castrillo, Jonathan Gonzalo Olivieri Moncada, Jaizul Carolina Galeano Arias, Lyz Jenny Gómez Rave</i> .....		2
<b>Perfil de consumo y costo de bebidas habituales y recomendadas en México, 2012-2018.</b> <i>Alfonso Mendoza-Velázquez, Ana Elena Pérez-Gómez</i> .....		12
<b>Obtención de productos proteicos bajos en fenilalanina a partir de suero dulce de leche y chachafruto (<i>Erythrina edulis</i> Triana)</b> <i>Franklin Villafuerte, Elevina Pérez, Antonieta Mahfoud, Yolmar Valero, Amaury Pérez Martínez</i> .....		25
<b>Efecto del consumo de alimentos con elevado contenido lipídico sobre el perfil lipídico de ratones sanos</b> <i>Miguel A. Campuzano-Bublitz, Elena M. Araujo, Rebeca P. Peralta, Rodrigo Burgos, Carmen M. Coronel; María L. Kennedy</i> .....		34
<b>Detección de gluten en alimentos etiquetados como libres de gluten disponibles en el mercado costarricense</b> <i>Jessie Usaga, Jacqueline Aiello</i> .....		42
<b>Diferencias por género en las prácticas de lactancia materna y alimentación complementaria en lactantes de 15 a 24 meses de la zona metropolitana de Guadalajara, México</b> <i>Lilia Perales-Huerta, Citlalli Álvarez-Zaragoza, Edgar M. Vásquez-Garibay, Alfredo Larrosa-Haro, Enrique Romero-Velarde, Raúl Cervantes-Medina</i> .....		50
<b>Primer reporte de <i>Escherichia coli</i> Productora de Toxina Shiga no O157 que codifica el gen de la enterohemolisina en carne cruda en Colombia</b> <i>Fanny Herrera Arias, Jesús Santos Buelga, Raquel Villamizar Gallardo</i> .....		59

# Archivos Latinoamericanos de Nutrición

## Official Publication of the Latin American Society of Nutrition

---

VOL 69

MARCH 2019

Nº 1

---

### Contents

	Pages
<b>Editorial</b>	
<i>Rafael Figueredo Grijalba</i> .....	1
<b>Effect of the addition of <i>Moringa oleifera</i> to fruit drinks on clinical parameters associated with iron deficiency anaemia in schoolchildren</b>	
<i>Karen Piedad Martínez Marciales, Javier Andrés Soto, Jhoalmis Sierra Castrillo, Jonathan Gonzalo Olivieri Moncada, Jaizul Carolina Galeano Arias, Lyz Jenny Gómez Rave</i> .....	2
<b>Profile of consumption and cost of usual and recommended drinks in México, 2012-2018</b>	
<i>Alfonso Mendoza-Velázquez, Ana Elena Pérez-Gómez</i> .....	12
<b>Obtaining protein products low in phenylalanine from milk whey and chachafruto (<i>Erythrina edulis</i> Triana)</b>	
<i>Franklin Villafuerte, Elevina Pérez, Antonieta Mahfoud, Yolmar Valero, Amaury Pérez Martínez</i> .....	25
<b>Effect of the consumption of foods with high lipid content on the lipid profile of healthy mice</b>	
<i>Miguel A. Campuzano-Bublitz, Elena M. Araujo, Rebeca P. Peralta, Rodrigo Burgos, Carmen M. Coronel; María L. Kennedy</i> .....	34
<b>Gluten detection in foods labeled as gluten-free available in the Costa Rican market</b>	
<i>Jessie Usaga, Jacqueline Aiello</i> .....	42
<b>Gender differences in breastfeeding and complementary feeding practices in infants aged 15 to 24 months in the metropolitan area of Guadalajara, Mexico</b>	
<i>Lilia Perales-Huerta, Citlalli Álvarez-Zaragoza, Edgar M. Vásquez-Garibay, Alfredo Larrosa-Haro, Enrique Romero-Velarde, Raúl Cervantes-Medina</i> .....	50
<b>First report of Shiga toxin-producing <i>Escherichia coli</i> non-O157 that encodes the enterohemolysin gene in raw beef in Colombia</b>	
<i>Fanny Herrera Arias, Jesús Santos Buelga, Raquel Villamizar Gallardo</i> .....	59

## EDITORIAL

*Dr. Rafael Figueredo Grijalba*

*Presidente. Sociedad Latinoamericana de Nutrición, Gestión 2019 – 2021.*

Es para mí un gran honor escribir el Editorial del primer número del volumen 69 de Archivos Latinoamericanos de Nutrición – ALAN, Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición – SLAN. Con mucha emoción, realizaré en primer lugar un breve relato histórico de la Revista.

Desde sus inicios, Archivos Latinoamericanos de Nutrición ha sido “una publicación científica dedicada exclusivamente a la Nutrición”, puesto que ha asumido los objetivos de su antecesora Archivos Venezolanos de Nutrición. La Sociedad Latinoamericana de Nutrición se hizo cargo de la Revista con la publicación del primer número del volumen 16, siendo el Editor General el Dr. Werner Jaffe, en la ciudad de Caracas, en el mes de septiembre de 1966.

Desde ese entonces ha sido el medio de divulgación de artículos científicos relacionados al campo de la alimentación y nutrición de investigadores, académicos y líderes latinoamericanos en el área mencionada. Generaciones de profesionales han hallado en Archivos Latinoamericanos de Nutrición el medio ideal para realizar consultas bibliográficas, además de poder difundir sus propias investigaciones.

En 1978 la edición se trasladada al INCAP con sede en Guatemala, tarea que ha sido realizada hasta el año 1991. Durante dicho periodo, el Editor General fue el Dr. Ricardo Bressani. En 1992 la edición de Archivos Latinoamericanos de Nutrición regresa a Caracas para continuar su publicación con el volumen 42, siendo el Dr. José Félix Chávez Pérez inicialmente Editor Asociado y posteriormente Editor General.

El Dr. José Félix Chávez Pérez se ha desempeñado como Editor General durante más de 20 años, desde 1997 hasta diciembre del 2018. No sólo ha desempeñado dicha tarea con idoneidad, sino que además la ha desarrollado con responsabilidad, demostrando ingenio y fortaleza para alcanzar las metas proyectadas.

En nombre del Consejo Directivo de SLAN, gestión 2019 – 2021 y de toda la Sociedad Latinoamericana de Nutrición, expreso nuestro profundo y merecido agradecimiento al Dr. José Félix Chávez Pérez por la tarea desempeñada. Hago extensivo este agradecimiento a todo el Equipo Editorial que lo acompañó en estos años.

La Dra. Maritza Landaeta – Jiménez, de Venezuela, quién estaba desempeñándose como Editora Asociada, es la nueva Editora General de Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Por tal motivo, expreso nuestras felicitaciones y nuestro deseo de éxitos en su gestión.

### Referencias

1. José Félix Pérez Chávez. Editorial: Una Trayectoria de Luz. ALAN 2017;67:2.
2. Mensaje del Dr. José Félix Pérez Chávez con motivo de la Reunión Convocada por el Presidente de SLAN Dr. Juan Rivera Dommarco sobre Archivos Latinoamericanos de Nutrición en el marco del Congreso Mundial de Nutrición, en Buenos Aires, Argentina, en el año 2017.

## Effect of the addition of *Moringa oleifera* to fruit drinks on clinical parameters associated with iron deficiency anaemia in schoolchildren

Karen Piedad Martínez Marciales,<sup>1,2</sup> Javier Andrés Soto,<sup>1,3</sup> Jhoalmis Sierra Castrillo,<sup>1,3</sup>  
Jonathan Gonzalo Olivieri Moncada,<sup>1</sup> Jaizul Carolina Galeano Arias,<sup>1</sup> Lyz Jenny Gómez Rave.<sup>4</sup>

**Summary:** Effect of the addition of *Moringa oleifera* to fruit drinks on clinical parameters associated with iron deficiency anaemia in schoolchildren. Worldwide, iron deficiency anaemia (IDA) is one of the most significant nutritional maladies, especially in low and middle-income countries. This is mainly due to the associated morbidity, economic implications on the health system and the welfare state. One of the most prevalent causes of IDA in children is insufficient food intake, which has an obvious connection with the social environment. The main strategy in the management of this condition is counteracting such deficiency through the improvement of nutrition and family upbringing. Aiming to explore affordable, novel and straightforward approaches to treat this nutritional condition, we developed a descriptive study associated with the incorporation of *Moringa oleifera* in homemade fruit beverages delivered to 32 children from low-income families, in order to assess the evolution of IDA, evaluating specific clinical parameters such as red blood cells volume, as well as hemoglobin, ferritin and serum iron levels, within a two-month lapse. At the end of this period, we observed a significant statistical rise in the levels of all the assessed parameters, finding about a 1.3-fold increase in hemoglobin and ferritin levels and in red blood cells volume; serum iron was 1.1 times higher. These findings are demonstrative of the wide spectrum of the medicinal features of *Moringa* and establish a promising and accessible strategy easy to incorporate into the diet of families of children suffering this pathology. **ALAN, 2019; 69(1): 2-11.**

**Key words:** Iron deficiency anaemia, *Moringa Oleifera*, nutrition, schoolchildren, functional food, serum iron.

**Resumen:** Efectos de la incorporación de la *Moringa oleifera* en las bebidas de frutas sobre parámetros clínicos que miden la deficiencia de hierro y anemia en niños. La anemia ferropénica (AF) es una de las carencias nutricionales más significativas a nivel mundial, especialmente en los países de bajos y medios ingresos, debido principalmente a la morbilidad asociada, las implicaciones en el sistema de salud y el estado de bienestar. Una de las causas más frecuentes de esta deficiencia en los niños es la ingesta insuficiente, que tiene una evidente conexión con el entorno social. La principal estrategia en el manejo de esta afección es contrarrestar esta deficiencia a través de la mejora de la nutrición y la educación familiar. Con el objetivo de explorar enfoques asequibles, novedosos y directos para el tratamiento de esta enfermedad, se desarrolló un estudio descriptivo asociado a la incorporación de la *Moringa oleifera* en bebidas de frutas caseras que se suministraron a 32 niños de familias de bajos ingresos para hacerle seguimiento a la evolución de la anemia por deficiencia de hierro, evaluando parámetros clínicos específicos como el volumen de células rojas y los niveles de hemoglobina, ferritina y hierro sérico en un lapso de dos meses. Se observó un aumento estadísticamente significativo en los niveles de todos los parámetros evaluados una vez finalizado el período de intervención. Al final del ensayo, observamos un aumento estadístico significativo en los niveles de todos los parámetros evaluados, encontrando un aumento de aproximadamente 1.3 veces en los niveles de hemoglobina y ferritina y en el volumen de los glóbulos rojos; el hierro sérico fue 1.1 veces mayor. Estos hallazgos son una demostración del amplio espectro de las características medicinales de la *Moringa* y establecen una estrategia prometedora y accesible, fácil de incorporar a la dieta de las familias de los niños que sufren esta patología. **ALAN, 2019; 69(1): 2-11.**

**Palabras clave:** Anemia ferropénica, *Moringa oleifera*, nutrición, escolares, alimentos funcionales, hierro sérico.

### Introduction

According to World Health Organization WHO (1), nutrition is the intake of food in relation to the dietary needs of the body, and a deficient nutrient uptake can affect immunity, increase vulnerability to disease, alter physical and mental development, and reduce cognitive productivity. Nutrition and feeding are complementary

<sup>1</sup>University of Santander (UNDES), Cúcuta, Bacteriology Program and Clinical Laboratory, <sup>2</sup>Crisalida Research Group. <sup>3</sup>Biogen Research Group. <sup>4</sup>University Institution of the Higher School of Antioquia (IUCMA), Faculty of Health Sciences, Biosciences Research Group, Medellín, Colombia.

Autor para la correspondencia: Jhoalmis Sierra Castrillo, Email: jhosica1988@hotmail.com

processes that are extremely significant at all stages of human development and biologically critical in childhood. A balanced diet is necessary in the early stages on the growth of an individual to consolidate his or her development and thus establish a solid biological basis for the following phases. An imbalance in the feeding-nutrition process could lead to the onset of a plethora of negative physiological outcomes, including the well-known iron deficiency anaemia (IDA). A quarter of the world's population is affected by anaemia and half of these individuals suffer from IDA. Iron is an inorganic mineral found in a variety of food that plays a main role in the physiology of living beings, as it is crucial for tissue development, synthesis of hormones and enzymes as well as oxygen intake in red blood cells. Twenty years ago, the International Nutritional Anaemia Consultative Group (INACG) estimated that about 80% of the world's population could be iron-deficient (2), whereas in Colombia the prevalence of iron-deficiency anaemia is 47% among schoolchildren (3). It is well known that critical social conditions are intimately linked with the appearance of IDA. There are geographic regions in Colombia that reach malnutrition rates similar to those observed in child population of Southern Sudan. Intense efforts are being made to develop social and experimental IDA control strategies based on the use of iron supplements, the intake of fortified food and drinks and the improvement of food safety. Based on this background, there was the need to develop a study whose main objective was to determine the effect of the addition of *Moringa oleifera* in daily household beverages to assess the evolution of anaemia in the population under study. This plant has a strong precedent in studies concerning traditional medicine and has been shown to play role as a an anti-pyretic, anti-oxidant, anti-cancer, anti-inflammatory, anti-obesity, hepatic and gastric-protector, anti-diabetic, immunomodulator, analgesic, among others (4), due to its phytochemical and pharmacological properties. Based on the generous empirical literature, we provided homemade beverages supplemented with *Moringa oleifera* to school students from low-income families in order to assess the condition of anaemia through various clinical parameters during two months of treatment.

## **Materials and Methods**

### *Population and type of study.*

This research was constructed as a prospective field study based on repeated measurements where every single individual was her/his control. A sample of 32 schoolchild from the Juan Bautista Scalabrini Institution located in Cucuta city was evaluated, according to the guidelines required for human research and under the approval of the Research Committee of Bacteriology and Clinical Laboratory program of the University of Santander, Cucuta campus. This study lasted two months

The inclusion criteria applied for selection of individuals were: students between 4 to 8 years old, hemoglobin levels (Hb) lower than 12 g/dl, volume of red cells lower than 33%, according to the criteria of the World Health Organization (WHO) for the diagnosis of anaemia in relation to hemoglobin levels and red blood cell volume in children from 5 to 11 years of age, (5). Children should be free of immunohematological diseases and cancer diagnosis. For children to be included in the study, the representative figure had to sign an informed consent beforehand. A family survey was conducted to assess the level of knowledge about anaemia status and assiduity in children's consumption of vegetables, fruit and protein. This study followed the guidelines established in the Declaration of Helsinki for research in human groups, pointing out that this research was carried out by individuals with adequate scientific preparation and under the supervision of health professionals. On the other hand, the willingness of each individual to decide whether or not to participate in this study was respected, always safeguarding their personal integrity. (Council of International Organizations of the Medical Sciences 1993).

### *Survey*

We performed a survey looking to support the descriptive investigation in order to collect data through a previously designed questionnaire, without modifying the environment or the phenomenon. We collected this information in the form of a table. Data was obtained by performing a set of standardized questions addressed to the parents of the children selected for the study. We applied the conventional pencil and paper method for the physical filling of the questionnaire and we implemented open and closed response questions related to the lifestyle and specific topics on the nutrition of their children and the state of health, as well as related to the condition of anaemia.

### *Plant material*

*Moringa oleifera* was collected in the presentation of dry leaves obtained from a food processing company. The dry leaves were packaged into bags that weighted 1 kilogram, thus gathering a total of 29.44 kilograms of the plant material that was used in the study. Leaves were pulverized in an industrial blender (HBH ECLIPSE HAMILTON® BEACH 12101034), obtaining portions of 10 gr of plant that were packaged into plastic bags made of low-density polyethylene.

### *Sampling*

As a first step in the methodological process, an individual selection was made based on clinical criteria evaluating hematological parameters, as mentioned before. A portable hemoglobin and hematocrit meter (MISSION® XRT ACON origin China, BG Analyzers) were used for sample analysis and further selection. Children with hemoglobin (Hb) levels lower than 12 g/dl and volume of red cells lower than 33% were selected for the study. 10 ml of venous blood was extracted per individual and collected into sterile 5 mL tubes; one of them with EDTA as anticoagulant (IMPROVE® EDTA.K3) for obtaining whole blood in order to perform the assessment of volume of red cells and hemoglobin. Another sample was taken in tubes without anticoagulant to evaluate ferritin and serum iron levels (PRECISION CARE® PLAIN) and both were centrifuged at 3000 rpm to separate plasma and serum.

### *Supply of Moringa oleifera*

The ideal fruits were chosen to mix with *Moringa* (orange, soursop, tree tomato, lulo and melon). 10 g of *Moringa oleifera* were added per 250 ml of fruit juice. The juices were prepared in the kitchen of the Juan Bautista Scalabrini Educational Institution in compliance with the cleaning and disinfection protocols. The juices were delivered to the students from Monday to Friday for 67 days (2 months).

### *Assess of clinical parameters*

Hemoglobin and hematocrit levels from whole blood were determined in the 32 samples as follows: First sample was taken before starting the intervention (supplementation with *Moringa*) and the following two samples were taken 25 and 67 days after the daily supplementation, respectively. Levels were measured with Mindray BC-2300 fully automatic analyzer (SB Santa Fe Provider-Argentina). Determination

of ferritin and iron were assessed from serum. Ferritin levels (BioSystems S.A), and iron serum (Wiener Lab), were measured through the Clinical Chemistry Analyzer ATAC 8000, manufacturer: ELITech Group. Data were further statically analyzed.

### *Statistical analysis*

Statistical analysis was based on the representation of data through graphical bar charts, simple frequency distributions and contingency tables. The calculation of descriptive measures was developed as averages and standard deviation, hypothesis test for mean difference, as well as Mauchly sphericity test and comparison of variables by significant minimum difference of Turkey. The conclusions of the analysis were provided under a 95% confidence level.

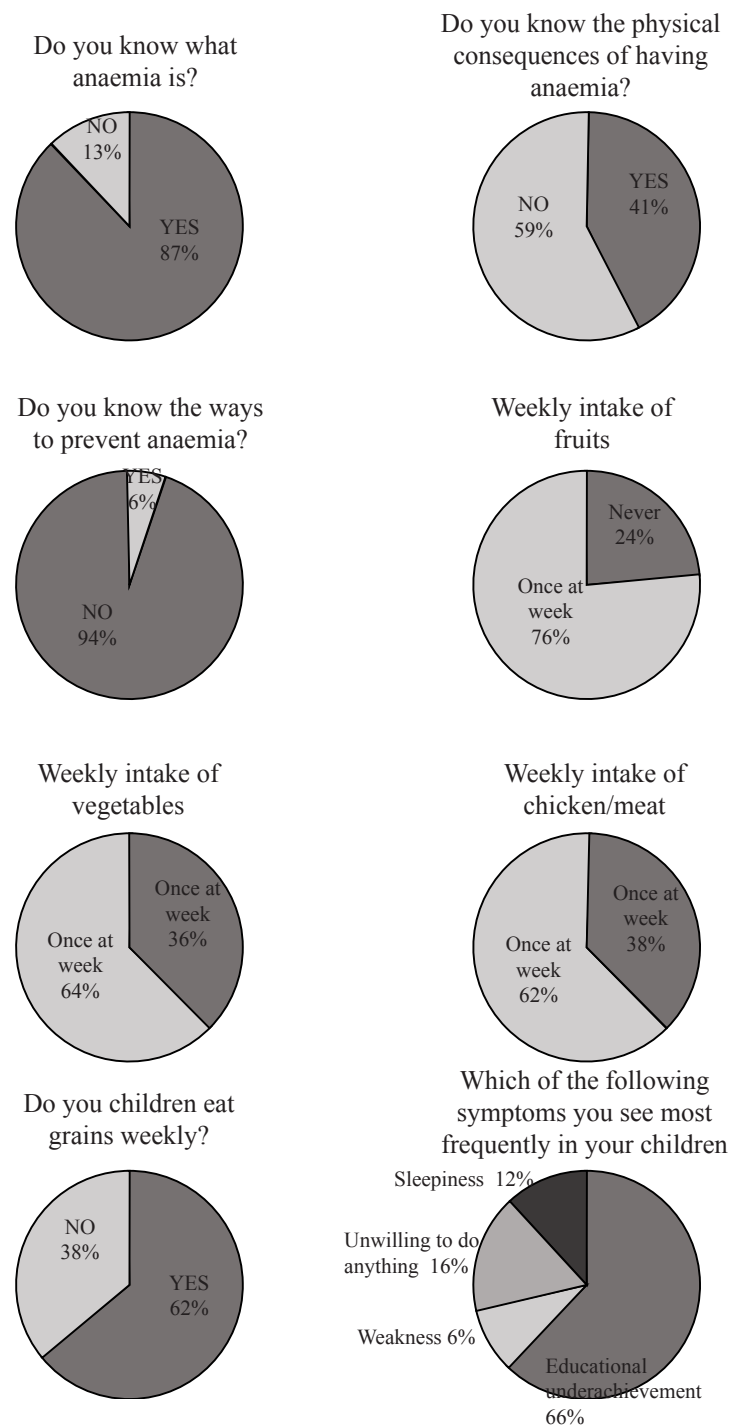
## **Results**

### *Social-economic lifestyles of the assessed population.*

Initially, we conducted a survey seeking to identify trends of social-economical behavior that might be associated with the presence of the disease in the children of the families surveyed. We identified a high frequency among parents in terms of an appropriate understanding regarding the meaning of anaemia, but on the other hand, we also observed a general lack of knowledge about the alternatives or actions to be taken to avoid or counteract the appearance of this entity. It is quite interesting that the main biological consequence of having IDA is reflected in the low capacity of infants to carry out their school activities efficiently. In terms of lifestyles, we identified a recurrent phenomenon associated with the low-income status that characterized the population under study, which was a poor intake of essential nourishment according to the stage of development in which these children are. Chicken and beef were the protein foods that more often were given to the children on a weekly basis. As a positive observation, most children consume grains weekly, specifically lentils (Figure 1).

*Adding Moringa oleifera to homemade beverages has positive effects on IDA.*

Seeking to test our hypothesis on the biological effect that Moringa could promote in children suffering from IDA, we assessed a series of clinical parameters, which are the most appropriate for a clinical follow-up of this condition. Tables 1 y 2 represents all the measures of everyone analyzed. The collected data was submitted for statistical analysis, specifically comparison of variables by significant minimum difference of Turkey due to the nature of the assessed variables and the design of our work. Although no obvious difference was observed for absolute values, once the statistical tools were applied a significant difference was observed for all parameters. The mean values increased for the volume of red blood cells, hemoglobin, ferritin and serum iron in the population under study at the end of treatment in a significant trend, so the statistical evaluation gives a  $p$ -value  $< 0.01$  for each intervention. The Mauchly sphericity test determined that the data met the homogeneity requirement except for the red cells volume (6). In order to present our findings in a more descriptive way, we present the output data through a graphical representation in which it is possible to observe the increasing trends of each parameter over time in a statistically significant way (Figure 2). These positive observations derived from the study were also identified in the proportion of children influenced by the effects of treatment. According to the histogram depicted in Figure 3, it is possible to observe a clear trend in the intervention time with respect to the increasing number of children who showed an improvement in the measurement of the biological parameters evaluated. Due to the design of the study, all individuals exhibited measurements below the normal cutoff in all the parameters at the beginning of the treatment, but this appreciation began to revert throughout the intervention, showing an increasing number of children who eventually began to recover normal values in the volume of red cells, hemoglobin, ferritin and serum iron.



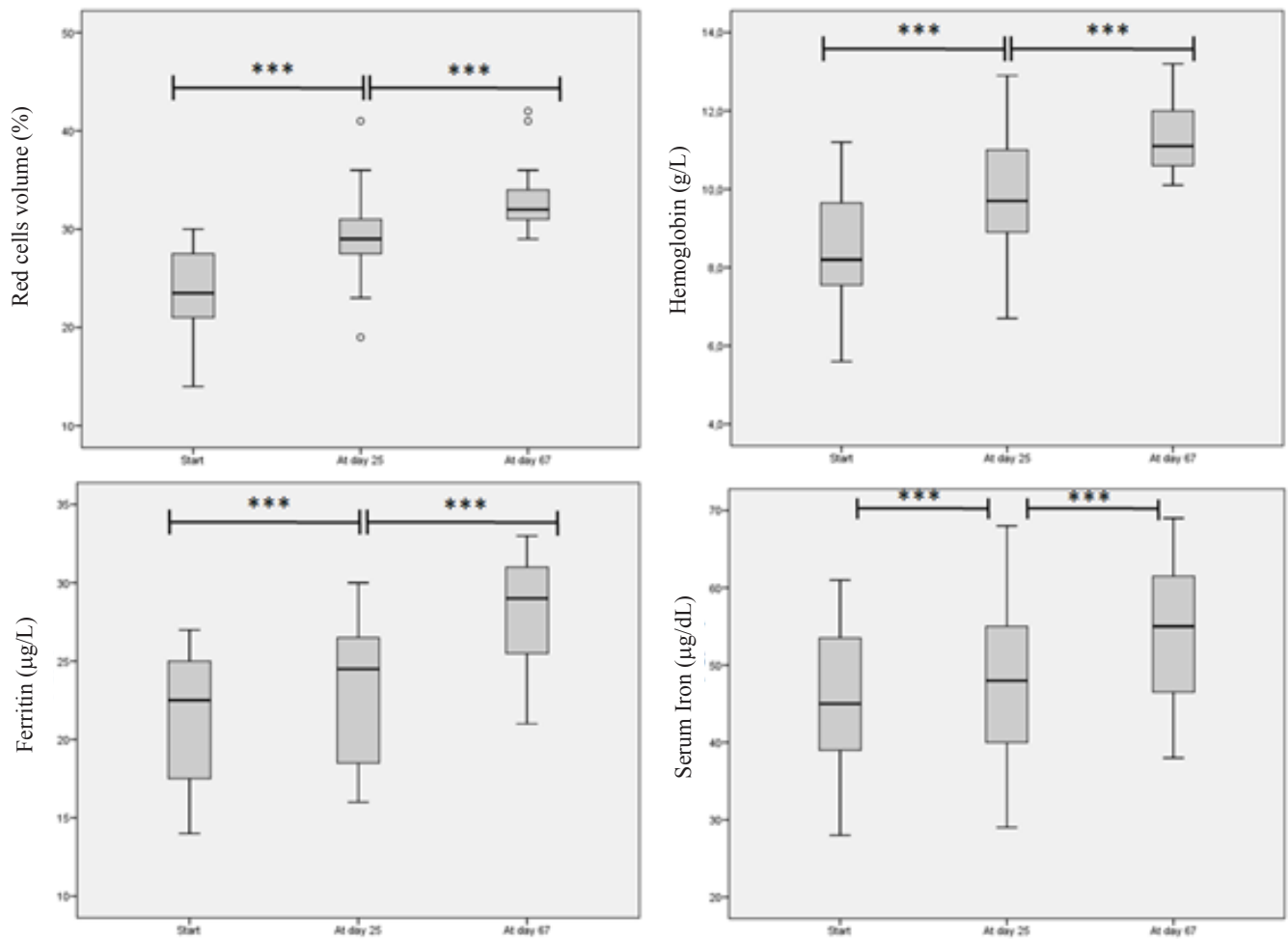
**Figure 1.** Questions addressed to parents of the 32 schoolchildren under study. In these pie charts are represented the most significant data obtained from the survey applied to the parents in order describe plausible descriptive associations with further assessment of the clinical parameters.

**Table 1.** Measurements in boys participants in the study. In this table are depicted every value for every parameter in every time lapse of intervention according to sex

Code	RED VOLUME CELLS ≤ 32%			HEMOGLOBIN ≤ 12,5 Gr/L			FERRITIN Male ≤ 29 µg/L ; Female ≤ 19 µg/L			SERUM IRON Male ≤ 64 µg/dL ; Female ≤ 49 µg/dL		
	1 Mx	2 Mx	3 Mx	1 Mx	2 Mx	3 Mx	1 Mx	2 Mx	3 Mx	1 Mx	2 Mx	3 Mx
NUES001	28	30	32	9,8	11,4	12,1	21	23	28	48	49	55
NUES002	21	28	31	8,1	9,2	11,2	25	26	29	37	38	43
NUES006	28	29	31	9,9	9,8	11,2	23	24	27	55	57	60
NUES011	30	32	33	11,2	11,1	11,9	24	26	29	41	45	46
NUES012	26	28	32	9,1	9,6	11,1	26	29	33	39	40	47
NUES022	14	19	30	5,6	6,7	10,1	26	28	31	54	55	59
NUES026	28	30	34	9,5	10,9	12,4	21	27	30	51	54	61
NUES027	24	31	35	8,3	11,1	12,6	25	27	31	39	41	49
NUES032	29	30	33	10,5	11,1	11,9	21	25	29	53	55	62
NUES036	26	30	32	9	10,7	11,1	27	28	31	45	46	57
NUES038	23	32	34	8,1	11,7	12,5	23	24	30	39	40	48
NUES039	27	33	36	10,1	11,9	12,6	24	25	29	45	48	55
NUES047	30	41	42	10,7	12,9	13,2	24	29	32	54	59	65
NUES048	29	36	41	10,1	11,9	12,9	26	30	31	61	68	69
NUES050	18	29	33	7,4	9,3	10,6	25	26	30	60	67	67
NUES054	27	28	32	9,5	9,3	10,1	27	28	31	54	56	64
NUES055	25	28	34	8,4	8,9	11,2	20	23	28	45	48	55
NUES057	23	25	30	7,9	8,1	10,6	25	26	26	39	41	47
NUES062	30	33	34	10,5	10,5	10,9	23	26	31	53	55	63
NUES066	23	34	34	7,6	8,1	10,6	25	23	28	56	57	61
NUES067	20	29	31	6,9	8,9	10,1	21	21	27	61	64	67
NUES070	19	25	30	6,7	8,3	10,3	19	23	29	52	55	64
NUES072	21	29	33	8	9,8	10,7	22	25	31	48	50	57

**Table 2.** Measurements in girls' participants in the study. In this table are depicted every value for every parameter in every time lapse of intervention according to sex.

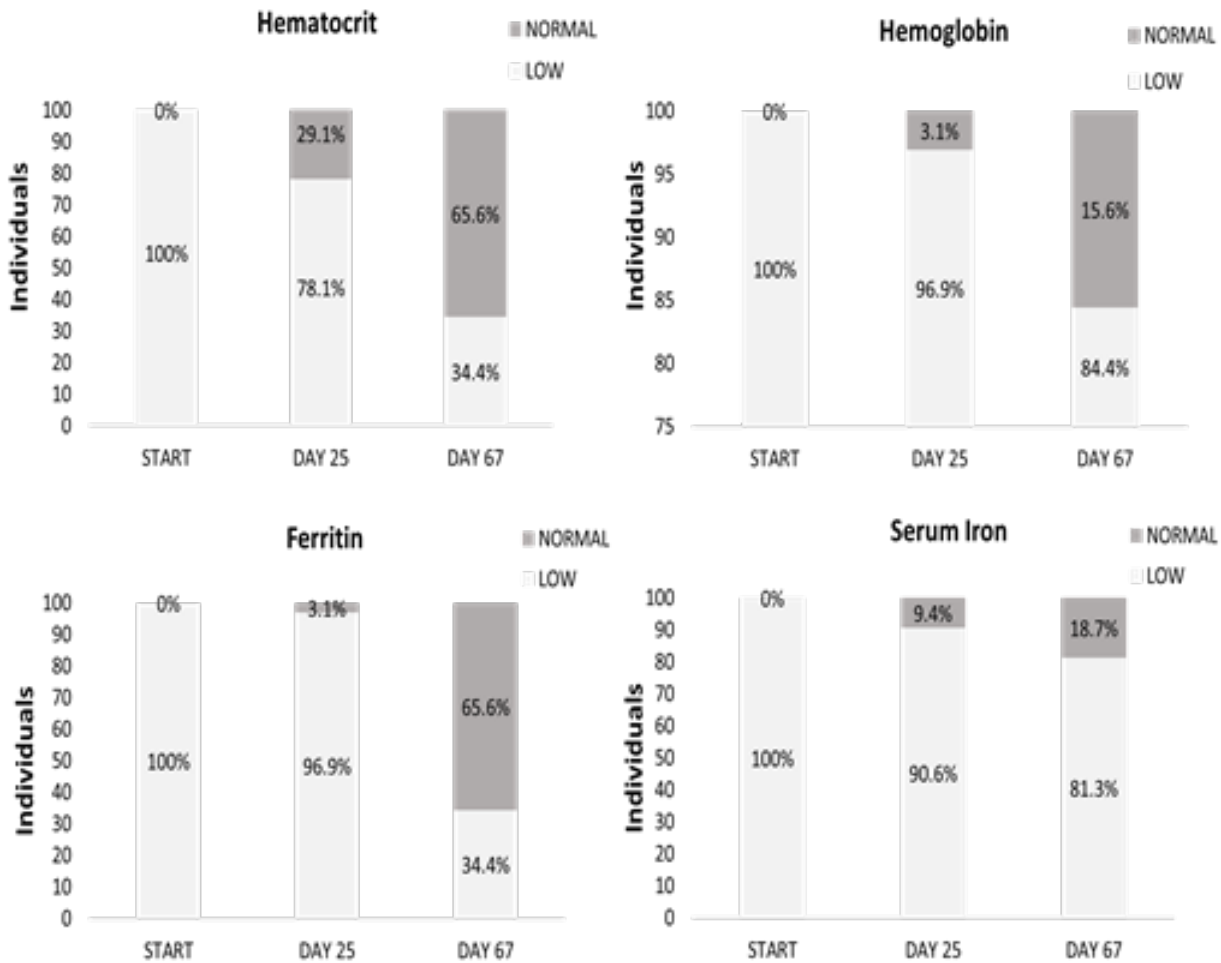
Code	RED VOLUME CELLS ≤ 32%			HEMOGLOBIN ≤ 12,5 g/L			FERRITIN Male ≤ 29 µg/L ; Female ≤ 19 µg/L			SERUM IRON Male ≤ 64 µg/dL ; Female ≤ 49 µg/dL		
	1 Mx	2 Mx	3 Mx	1 Mx	2 Mx	3 Mx	1 Mx	2 Mx	3 Mx	1 Mx	2 Mx	3 Mx
NUES003	23	25	30	8,2	8,6	10,9	14	19	23	29	31	40
NUES013	21	26	30	7,5	8,4	10,9	16	18	24	28	32	40
NUES021	19	23	29	7,2	7,5	10,6	14	17	24	31	35	42
NUES031	21	28	32	7,4	8,9	12,1	15	17	25	28	29	38
NUES046	21	27	30	8,2	10,1	10,9	16	17	26	38	36	40
NUES051	27	30	32	8,7	8,9	10,9	17	17	24	47	55	61
NUES060	21	31	32	7,5	9,8	10,1	15	16	21	42	46	54
NUES064	21	27	31	8,1	9,2	11,1	15	16	24	40	42	49
NUES065	26	30	32	8,2	10,9	11,2	18	18	23	33	35	44



**Figure 2.** Evolution of anaemia based on the clinical assessed parameters. We estimated the behavior of each biological item over time looking to identify fluctuation due to the addition of Moringa in the beverages given to the children. It can be inferring from this representation the rising trend from the beginning of the intervention and during the whole time lapse of the study. Asterisk represents the p-value < 0.01.

An interesting observation is that a high proportion of children reached the normal values of volume of red cells and ferritin at the end of treatment, thus 65.6% of individuals restored their values in both parameters (Figure 3). All these data contributed to support that the

strategy that we applied in this study regarding combining homemade juices with the plant under investigation has positive biological outcomes related to the recovery of the main physiological reference parameters applied in the clinical prognostic of iron deficiency anaemia.



**Figure 3.** Proportion of individuals influenced by treatment. This histogram allows to identify a gradual increase in the number of children that start to recover the normal values in all the parameters during the time of the intervention.

### Discussion

In terms of diet, it is essential to bear in mind that nutrition in the first stage of human life, i.e. in childhood, implies a commitment to the provision of enough elements to the body to carry out the necessary biological functions at this important stage of development. Assuming a balanced diet in children is key to avoiding the appearance of possible disorders such as obesity, anorexia, malnutrition, poor cognitive development, predisposition to cancer, among others. In addition to this panorama, it is common to identify inappropriate lifestyles, many of them associated with poor socioeconomic conditions. Mahan and Scote (2001) (7) state that nutrition is the intake of food in relation to the dietary

needs of the body. A good nutrition (a balanced diet combined with regular physical exercise) is a key element of good health. Essential nutrients include vitamins, amino acids, fatty acids and a certain amount of carbohydrates as energy sources. The amounts needed for these nutrients differ with age and physiological status. Conditionally nutrients are those that can be synthesized in the body, such some amino acids and puric bases, in quantities that may be insufficient in certain states, so they should be provided to immature infants and individuals who do not synthesize them enough due to genetic defects or pathological conditions.

The FAO definition of undernourishment refers to the proportion of the population whose dietary energy consumption is low than a predetermined threshold. This threshold is country specific and is measured in terms of the number of kilocalories required to conduct sedentary or light activities (8). Undernourished is also referred to as suffering from food deprivation and it has a straight relation with social economic environment of a country. Colombia is one of the four countries that have managed to reduce malnutrition since 2014, however, malnutrition is a problem that affects all regions of the country. (9) Each federal agency dedicated to addressing this problem has taken steps to counteract it. Colombia's Family Welfare Institute warns that 13.2% of the country's children suffer from chronic malnutrition and ensures that strategies are already being implemented to fight this situation. (10). Thus, the government and the food companies have developed strategies that seek to confront this gloomy panorama. These alternatives include fortified public food delivery interventions such as Bienestarina, which is distributed to all children, or the free breakfast program for disadvantaged children, which distributes milk, biscuits and other cereals fortified with folic acid, iron and zinc. Among other examples in Latin America of these approaches is the work performed by Alvarez *et al* (2012), where they carried out a study regarding delivering of instant rice porridge fortified with micronutrients for children from 12 to 36 months, showing that this strategy is a potential alternative for infant feeding in a straightforward way (11). Hajar *et al* (2015) developed a systematic review of the literature related with the efficacy of fortified rice consumption in relation to increase of iron and other micronutrients levels in children from 6 to 59 months of age, and found that rice fortification represented an effective intervention strategy to correct iron deficiency in this population (12). Rojas *et al* (2011) compared the efficacy of aminoquelate iron versus ferrous sulphate as a fortifying dietary supplement in iron-deficient preschool children. Fifty-six preschool children with iron deficiency were analyzed and after two months the levels of hemoglobin, volume of red cells and serum ferritin were measured, the two

compounds being found to increase ferritin levels, but milk enriched with aminoquelated iron does so in a statistically significant way (13). The food industry contributes through fortified children's foods and preparations, but the disadvantage is that they are expensive and unavailable to the families that need them most. That is why these approaches should be focused on using as raw material items that are easy to consume and with a low production cost, as it could be *Moringa oleifera*. *Moringa* is a genus of shrub whose leaves, roots and unripe pods are eaten as a vegetable. All its parts (bark, pods, leaves, seeds, tubers, roots and flowers) are edible and its use dates back to 2000 BC. (14) The potential uses of this plant are several and can be applied in the nutritional field, to the treatment of water or soil and even in industry, so it is evident the importance of this plant for the future (15). Sanchez *et al* (2016) developed a study in order to assess the impact generated by the use of the plant in the breeding of chickens, identifying that the animals that consumed the food and water mixed with *Moringa* presented blood analyses of total proteins, albumin, leukocytes and hematocrit superior to those of the control group (16). In 2013, Castro developed a study to propose that the *Moringa* tree could be implemented as a renewable source for the production of biodiesel with high yield and productivity in Colombia, as well as an instrument to the decontamination of surface water (17). The widest and most varied studies focus on the biomedical uses of the plant. *Moringa Oleifera* is a small tree that has great nutritional qualities, which can contribute to the supply of nutrients needed in the diet of children (18). The leaves have outstanding nutritional qualities, which are among the best of all vegetables (19). The protein content of the leaves is 27% and contains significant amounts of calcium, iron and phosphorus, as well as vitamin A and C. This nutritional value is particularly important in areas where food security may be threatened by periods of drought, as *Moringa* leaves can be harvested during dry periods when no other fresh vegetables are available (20). The most important micronutrients are iodine, iron and vitamin A, which are essential for physical growth, development of cognitive and physiological functions and resistance to infections, and it is well known the association between iron deficiency and onset of IDA. Several *in vitro* and *in vivo* approaches have been developed to evaluate the potential role of this plant in the treatment of anaemia. Mun'im *et al* (2016) conducted a study to assess the effect of ethanolic extract of *Moringa* leaves through the evaluation of hematological parameters in female rats, finding an increase in hemoglobin, red blood cells count and total iron

content in the blood of these animals (21). Similarly, Ajugwo *et al* (2017) evaluated the hematinic effect of Moringa in 15 rats which anaemia was induced by phenylhydrazine, finding as Mun'im, an increase in hematological parameters in a significant trend (22). At the translational level, Suzana *et al* (2017) developed a randomized controlled study in anemic women in which water extract of Moringa leaves was added to ferrous sulfate therapy, finding that the extract yielded a significantly increase of mean concentration of hemoglobin, ferritin, Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration and volume of red cells compared to control group (23). Our work is closely related to the Rojas (13) and Suzana (23) studies, since these have been developed from the clinical field, however in our approach the study subjects were not under any type of treatment for IDA, a fact that confers robustness to our work. The other approaches related to the use of Moringa in the nutritional field as a food supplement allowed us to give our study the credit of postulating this plant as a potential element in both the treatment of diseases as a complement to the diet of malnourished children, as demonstrated by this work.

Although the clinical evidence in this study points to a remedial effect of Moringa in the treatment of IDA, it should be noted that one of the weaknesses of this work lies in the absence of a control group that received only the vehicle (homemade juice), in order to be certain that the effect observed is caused by the supplement itself and not by the iron or any other element contained in the fruits used to prepare drinks. The WHO recommends a daily intake of elemental iron of at least 10 mg for the age group under study (24). It is very likely that the amount of iron that the children received through Moringa was much lower than the recommended value, however, we identified positive results regarding the evolution of anaemia, which implies that other elements contained in the plant may be promoting the metabolism of iron, a fact that would be interesting to investigate through a study that contemplates the inclusion of a control group as mentioned above (19).

Based on the solid evidence of the potential use of this plant as a natural therapeutic element for IDA, we seek to demonstrate that this strategy could be effective in coupling the addition of these extracts to daily consumption foods and economic manufacturing, such as homemade beverages. The conclusions of this work allowed to demonstrate that the addition of Moringa to these foods allowed the restoration of all the analyzed parameters in a statistically significant way. These observations are very valuable from the descriptive

analysis regarding the possibility of including this type of strategy in the state's food programs, giving priority to the low resources child population. These interventions cover a broad spectrum of positive outcomes in the future, both socially and economically and in the welfare state of the general population. This work is a proof of concept that this plant has the potential to help overcome iron deficiency and recover from anaemia in a natural and direct manner without the need for medication.

Regarding to a deep biological analysis of the possible effect of phytochemicals present in Moringa and the outcome on iron metabolism, it has been demonstrated through a study carried out in rats, that iron deficient animals treated with the leaves improved the evaluated parameters exhibiting changes in the mRNA of hepcidin gene in liver, a key molecule in the iron metabolism (25). So far, these observations have not been extrapolated in humans, which could be a possible continuation of this work in order to unveil the effector mechanism of Moringa on iron metabolism.

## Conclusions

These findings are a demonstration of the broad spectrum of medicinal characteristics of Moringa Oleifera and establish a promising strategy that is accessible and easy to incorporate into the families of children with iron-deficiency anaemia. For this reason, the consumption of this substance is recommended, associated with a healthy diet can generate the development of a healthy life

## Acknowledgements

The authors thank the Universidad de Santander campus Cúcuta and the San Juan Bautista Scalabrini School of Atalaya.

## Referencias

1. Torresani ME, Somoza MI. Lineamientos para el cuidado nutricional. 3<sup>a</sup> ed. Buenos Aires: Eudeba; 2011.
2. Raymond J, Couch S. Tratamiento nutricional médi-

- co en las enfermedades cardiovasculares. En: Mahan L, Escott S, Raymond J, editores. Krause Dietoterapia. 13<sup>a</sup> ed. Barcelona: Elsevier; 2013.
3. Organización Mundial de la Salud. Enfermedades cardiovasculares. Ginebra. OMS; 2015.
  4. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Prevalencia de Enfermedades Cardiovasculares en Paraguay. Asunción. MSPBS; 2012.
  5. Guasch-Ferré, M., Liu, X., Malik, V. S., Sun, Q., Willett, W. C., Manson, J. E., Rexrode KM, Li Y, Hu F, Bhupathiraju, S. N. Nut Consumption and Risk of Cardiovascular Disease. *J Am Coll Cardiol* 2017; 70(20): 2519–2532.
  6. Emekli E, Kasikci E, Yarat A. Peanuts improve blood glutathione, HDL-cholesterol level and change tissue factor activity in rats fed a high-cholesterol diet. *Eur J Nutr* 2007; 46: 476-482.
  7. Fattore E, Bosetti C, Brighenti F, Agostoni C, Fattore G. Palm oil and blood lipid-related markers of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis of dietary intervention trials. *Am J Clin Nutr* 2014; 99: 1331-1350.
  8. Omole J, Ighodaro O. Comparative studies of the effects of egg yolk, oats, apple and wheat bran on serum lipid profile of wistar rats. *ISRN Nutrition* 2013:1-4.
  9. Hodzic A, Hamamdžić M, Gagić A, Crnkic C, Kadric M, Pasić E. *et al.* Lipid composition of liver in rats fed diets supplemented with egg yolks of modified composition. *Acta Vet-Beograd* 2012; 62: 455-466.
  10. Socarrás M, Bolet M. Alimentación saludable y nutrición en las enfermedades cardiovasculares. *Rev Cubana Invest Bioméd* 2010; 29: 353-363.
  11. Nettleton JA, Brouwer IA, Geleijnse JM, Hornstrad G. Saturated Fat Consumption and Risk of Coronary Heart Disease and Ischemic Stroke: A Science Update. *Ann Nutr Metab* 2017; 70: 26–33.
  12. Friedewald W, Levy R, Frederickson D. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.
  13. Real Decreto 17344, 1201/2005 de 10 de octubre sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros factores científicos, Ministerio de la Presidencia. España. BOE252. P.34367-69.
  14. Peñalvo J, Oliva B, Sotos M, Uzhova I, Moreno B, León M, Ordovás JM. La mayor adherencia a un patrón de dieta mediterránea se asocia a una mejora del perfil lipídico plasmático: la cohorte del Aragon Health Workers Study. *Rev Esp Cardiol* 2015; 68: 290–297
  15. Berciano S, Ordovas J. Nutrición y salud cardiovascular. *Rev Esp Cardiol* 2014; 67: 738–747.
  16. Sánchez A, Ortega M. Metabolismo de las lipoproteínas. En: Gil A, editor. Tratado de Nutrición. Bases Fisiológicas y bioquímicas de la nutrición. 2<sup>a</sup> ed. Argentina: Panamericana; 2010.
  17. Zhong VW, Van Horn L, Cornelis MC, Wilkins JT, Ning H, Carnethon MR, Greenland P, Mentz RJ, Tucker KL, Zhao L, Norwood AF, Lloyd-Jones DM, Allen NB. Associations of dietary cholesterol or egg consumption with incident cardiovascular disease and mortality. *JAMA* 2019; 321: 1081-1095.
  18. Omole J, Ighodaro O. Comparative Studies of the Effects of Egg Yolk, Oats, Apple, and Wheat Bran on Serum Lipid Profile of wistar rats. *ISRN Nutrition* 2013; 1-4.
  19. Barbosa M, Cota C, Pinheiro A, Mandarim C. Lipid Metabolism in Rats Fed Diets Containing Different Types of Lipids. *Arq Bras Cardiol* 2002; 78: 32-38.
  20. Kuang H, Yang F, Zhang Y, Wang T, Chen G. The Impact of Egg Nutrient Composition and Its Consumption on Cholesterol Homeostasis. *Cholesterol* 2018. 1-22
  21. Ferreira M, Queiroz J, Costa N, Pinto S. Serum lipids and hepatic morphology of rats fed different lipid sources (soybean oil, fish fat and lard, margarine and butter). *Rev Nutr Campinas* 2011; 24: 143-152.
  22. Nasiff A, Herrera A, Argüelles D, Martínez J, Soto J, Tomargo T, Tamargo T, Pérez A. Efecto del consumo de tres huevos de gallina diarios sobre el perfil lipídico en pacientes dislipidémicos. *Clin Invest Arterioscl* 2011; 23:1-7.
  23. Detección, valoración y tratamiento de la hipercolesterolemia en adultos. *Rev Panam Salud Pública* 2001; 9: 338-344.
  24. Alper C, Mattes R. Peanut consumption improves indices of cardiovascular disease risk in healthy adults. *J Am Coll Nutr* 2003; 22: 133-141.

Recibido: 09/04/2019  
Aceptado: 10/07/2019

## Perfil de consumo y costo de bebidas habituales y recomendadas en México, 2012-2018

*Alfonso Mendoza-Velazquez,<sup>1</sup> Ana Elena Pérez-Gómez.<sup>2</sup>*

**Resumen: Perfil de consumo y costo de bebidas habituales y recomendadas en México, 2012-2018.** El objetivo de este estudio fue medir y comparar el comportamiento inflacionario del costo de las Bebidas Habituales y del costo de la Jarra de Bebidas Recomendada para la población mexicana. Basados en información sobre el consumo de bebidas en adultos (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición) y de los precios promedio mensuales (Instituto Nacional de Estadística y Geografía) para cada bebida durante enero 2012 - Junio 2017, se calcularon los costos del consumo y la inflación de bebidas habitual y recomendado. El costo de las Bebidas Recomendadas es consistentemente mayor que el de las Bebidas Habituales. Las tasas de inflación son similares excepto en 2014 cuando se introdujo el impuesto a las bebidas azucaradas. Se encuentra que los precios y la inflación de las bebidas con azúcares añadidos y de las bebidas habituales responden menos que proporcionalmente. Una inflación del costo de las bebidas recomendadas más alta que las habituales puede incrementar la demanda por bebidas habituales. El comportamiento de la inflación revela que el impuesto a bebidas azucaradas puede ser efectivo pero transitorio. *ALAN, 2019; 69(1): 12-24.*

**Palabras clave:** Consumo, bebidas habituales, bebidas recomendadas, costos, inflación.

### Introducción

El sobrepeso y la obesidad se han posicionado como uno de los principales problemas de salud pública en México (1-3). Estudios epidemiológicos indican que la ingesta de bebidas azucaradas es un factor condicionante del sobrepeso y la obesidad (4-5); Diabetes Mellitus Tipo II (6) y enfermedades

**Summary: Profile of consumption and cost of usual and recommended drinks in Mexico, 2012-2018.** The aim of this study was to measure and compare the inflationary behavior of the Usual Drinks Intake cost and the Recommended Drinks Intake Jar cost for the Mexican population. Based on information about the consumption of drinks in adults (National Health and Nutrition Survey) and of the average monthly prices (National Institute for Statistic and Geography) for each specific drink during January 2012-June 2017, we calculate consumption costs and inflation of usual and recommended drink intakes. The cost of the recommended drinks is consistently higher than the usual drinks cost. Inflation rates are similar in both drink intakes except in 2014, when the tax to sugary drinks was implemented. Prices and inflation of sugary drinks and usual drinks respond less than proportionally. A higher inflation of recommended drink costs compared to the usual drinks inflation could increase the demand for usual drinks. The behavior of inflation reveals that the tax to sugary drinks can be effective, but transitory. *ALAN, 2019; 69(1): 12-24.*

**Key words:** Consumption, usual drinks, recommended drinks, costs, inflation.

cardiovasculares (7), que podrían llevar a una muerte prematura. Entre las consecuencias metabólicas del aumento en el consumo de bebidas azucaradas están también el daño al hígado y a los riñones, así como el incremento de triglicéridos (8), mayor presión sanguínea (9) e hígado graso (10).

Reducir el consumo de bebidas con edulcorantes calóricos puede ser una estrategia para reducir la ingesta de energía (11). Para lograrlo se han diseñado varias medidas de política pública. Una de estas fue la propuesta del gobierno mexicano en enero de 2014 de introducir el Impuesto Especial Sobre Producción y Servicios (IEPS) a las bebidas saborizadas con azúcares añadidas y a los alimentos no básicos con alta densidad calórica. El impuesto a las bebidas consiste en \$1 Peso Mexicano

---

<sup>1</sup>Centro de Investigación e Inteligencia Económica (CIIE), Decanato de Ciencias Sociales, Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla (UPAEP), Puebla México. <sup>2</sup> Escuela de Nutrición y CIIE-UPAEP, Puebla México.

Autor para la correspondencia: Alfonso Mendoza-Velázquez.  
Email: alfonso.mendoza@upaep.mx

(MXN) por cada litro de bebida saborizada con azúcares añadidos (12). Este impuesto no incluye medicamentos, el suero oral, ni la leche en sus diferentes presentaciones. Los alimentos no básicos, como dulces, chocolates, botanas, galletas, helados, entre otros definidos en la Ley del Impuesto Especial Sobre Producción y Servicios (IEPS) que aporten 275 kilocalorías o más por cada 100 gramos se gravan con un impuesto de 8% sobre su precio de venta (13).

Diferentes investigaciones sobre la relación entre la calidad de la dieta (densidad energética) y su costo en países desarrollados han encontrado que los alimentos saludables con baja densidad calórica tienen un mayor costo, mientras que alimentos con alta densidad calórica tienen un menor costo, lo cual puede estar relacionado con la prevalencia de obesidad en el mundo (14). Este estudio busca comparar si los costos del Consumo de la Canasta de Bebidas Habitual (COBHA), que contienen un mayor aporte calórico obtenido del cuestionario de frecuencia de consumo de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2012, son menores a los costos del Consumo de la Canasta de Bebidas Recomendadas (COBRE), definidas por el Comité de Expertos para las Recomendaciones de Bebidas (CERB) (1). Adicionalmente buscamos evaluar el impacto del impuesto sobre el precio y la inflación de las bebidas implementado en enero de 2014.

Estudios previos han encontrado que los alimentos con alta densidad energética (granos refinados, azúcares y grasas) tienden a ser más baratos que los alimentos de baja densidad (14). Otros han reportado que la dieta habitual del mexicano registrada por encuestas de consumo y gasto de los hogares es, en general, más barata que dietas saludables diseñadas para adultos promedio (15). Se ha reportado recientemente, con datos de la ENSANUT 2012, que dietas que contienen alimentos procesados de alta densidad calórica muestran un alto costo (16). El costo de las bebidas habituales y recomendadas, así como el crecimiento anual de estos costos, no ha sido analizado previamente en la literatura.

## **Materiales y Métodos**

### *La muestra*

La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012 (ENSANUT 2012) es una encuesta probabilística con representatividad estatal que se realiza en México cada 6 años (17). La ENSANUT 2012 está conformada por diferentes módulos, entre ellos el Cuestionario de Frecuencia de Consumo (FCA) que contiene 158 alimentos, incluidas bebidas integradas en ocho grupos (Tabla 1). El consumo en mililitros de bebidas habituales se registró a partir de la muestra total del consumo de 3,056 personas mayores de 19 años con consumos reportados entre 500 y 5000 kcal. Se considera la ingesta de calorías proveniente del azúcar añadido a bebidas como leche, café o té; se completaron los registros de aquellos casos en los que no se contaba con información del aporte calórico, para ello se utilizó el promedio de aporte por cada mililitro consumido.

### *Variables*

#### *Consumo de bebidas habitual*

En este estudio nos referimos a los patrones de consumo habitual de bebidas por persona a los datos de consumo obtenidos del FCA de la ENSANUT 2012 del que, adicionalmente, extraemos los precios promedio mensuales provistos por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) cada uno de los meses en el periodo enero 2012 – junio 2017. Estos precios mensuales multiplicados por el consumo individual en mililitros y sumados para cada bebida consumida habitualmente por persona, arrojan el costo en pesos mexicanos por mililitros del Consumo de Bebidas Habitual.

El consumo reportado por las personas entrevistadas en la fecha de captura de la ENSANUT 2012 se mantiene fijo y se actualizan los precios de las bebidas para todos los meses siguientes utilizando el crecimiento mensual del Índice Nacional de Precios al Consumidor de cada bebida para todos los meses de la muestra. El costo de la Jarra de Bebidas Recomendada se obtiene a partir de las recomendaciones de consumo de la jarra de bebidas por género (1) que se mantienen fijas y cuyos precios se actualizan cada mes para todo el periodo de análisis.

**Tabla 1** Grupos de bebidas que conforman el consumo Habitual de Bebidas (CHB) reportadas en la Frecuencia de Consumo por día (INSP, 2012)\*

Grupo	Alimento
Leche	Leche Liconsa o entera; leche preparada de sabor; otras leches y agregados (azúcar y chocolate).
Café o té	Café o té c/s azúcar y agregados (leche).
Jugos o aguas de sabor <sup>a</sup>	Jugos naturales sin o con azúcar; aguas de frutas con azúcar y sin azúcar.
Bebidas industrializadas sin azúcar (BIA) <sup>b</sup>	Refresco de dieta; bebidas industrializadas sin azúcar.
Bebidas industrializadas con azúcar (BIB) <sup>c</sup>	Refresco normal; bebidas industrializadas con azúcar; néctares de fruta con azúcar.
Alcohol	Bebidas alcohólicas.
Agua	Agua sola.
Atole <sup>d</sup>	Atole de maíz con agua o con leche.

Fuente: *Elaboración propia con base en la frecuencia de Consumo de Alimentos, ENSANUT 2012 (17).*

\* Encuesta Nacional de Salud. Resultados nacionales 2012 (17). <sup>a</sup> Jugos: Jugos o bebidas de frutas elaborados dentro de los hogares, restaurantes, comedores, entre otros, que por su método de preparación no forman parte de las Bebidas con Impuesto. <sup>b</sup> Bebidas industrializadas sin azúcar (BIA): Bebidas que pasan por un proceso industrial que no contienen azúcares calóricos. <sup>c</sup> Bebidas industrializadas con azúcar (BIB): Bebidas que forman parte del Impuesto establecido en el 2014 para Bebidas Saborizadas con Azúcares Añadidas de México (13). <sup>d</sup> Atole: Bebida típica mexicana elaborada a base de maíz. Su preparación puede incluir agua o leche.

### Jarra de Bebidas Recomendada

El Comité de Expertos para las Recomendaciones de Bebidas (CERB) conformado en el año 2008 definió el grupo de bebidas que integran las “Recomendaciones sobre el consumo de bebidas para la población mexicana” con base en la propuesta de la Secretaría de Salud en México y el Instituto Nacional de Salud Pública (1). El objetivo general de este comité fue proporcionar una guía sobre los beneficios y riesgos nutricionales de varias categorías de bebidas. El comité realizó una revisión del patrón de consumo de bebidas en México y estableció categorías y porciones recomendadas de consumo para diferentes bebidas de acuerdo a sus beneficios y riesgos nutricionales (1). Actualmente estas recomendaciones son una guía informativa de las bebidas saludables y de la cantidad de líquidos que las personas deben consumir al día (1). El costo en pesos mexicanos por mililitros del Consumo de Bebidas Recomendado se calcula de manera similar manteniendo fijo el consumo recomendado de cada bebida multiplicando por el precio respectivo y sumado para cada persona.

*Análisis estadístico.* La muestra de n=3,056 personas, así como el cálculo de las calorías promedio consumidas en total y la contribución porcentual para cada grupo de bebidas y para los distintos estratos, se obtuvieron a partir de la ENSANUT empleando el paquete estadístico Stata v. 14. Con el fin de identificar si existen diferencias estadísticamente significativas entre categorías para cada tipo de bebida empleamos la *prueba t* para diferencia ponderada de medias, el error estándar (SE) y el *p-valor*. El *p-valor* se emplea para indicar si la diferencia entre la categoría de referencia (ref) con las otras categorías es estadísticamente significativa. El nivel de confianza empleado es de 95%. El cálculo de la inflación anualizada de los costos de cada tipo de bebidas se computa como  $\pi_t = [(P_t/P_{t-12}) - 1] * 100$ , donde  $\pi_t$  es la tasa de inflación del mes t,  $P_t$  es el costo del mes t, y  $P_{t-12}$  es el costo del mismo tipo de bebidas doce meses antes.

## Resultados

La Figura 1 muestra los aportes de las recomendaciones de bebidas en mililitros y kilocalorías y su comparación por género. Se destaca una recomendación de mayor consumo de leche baja en grasa y de menor consumo de agua en mujeres respecto a los hombres (1).

La Tabla 2 muestra que el consumo de bebidas habitual de un mexicano adulto aporta 341 kcal, lo cual representa el 18% del consumo total de la dieta diaria. Esto contrasta con un aporte calórico de 22.3% reportado anteriormente como consumo habitual promedio en adultos mexicanos (5). Algunos estudios que utilizan el Recordatorio de 24 horas de la ENSANUT 2012 reportan un consumo de bebidas habitual de 382 kcal, lo cual representa el 19% del total de la dieta (18).

Los resultados muestran que del total de kcal consumidas de bebidas, el aporte calórico de la leche (92 kcal) con 27% del total de calorías aportadas por las bebidas a la dieta de los mexicanos se convierte en uno de los más altos. El grupo de bebidas industrializadas tipo B (BIB),

conformado por las bebidas saborizadas con azúcares sujetas a impuesto como refrescos, jugos y néctares procesados, aporta 97 kcal en promedio, lo que representa 28% del total de las calorías aportadas por bebidas. La contribución en calorías de este grupo de bebidas y sus posibles impactos en el sobrepeso y la obesidad, explica la aplicación del impuesto de 1 Peso MXN por litro a este tipo de bebidas en enero de 2014 (12).

El aporte de calorías proveniente de las bebidas en su conjunto es mayor para los hombres (399 kcal; 20%) que para las mujeres (292 kcal; 17%) (Tabla 2). El total de kcal recomendadas en hombres es de 231 kcal mientras que para las mujeres es de 187 kcal. En hombres, el aporte de calorías proveniente de las BIB es de 111 kcal (28%), siendo la principal fuente de aporte calórico, incluso mayor que la leche (90 kcal; 23%). Las mujeres también reportan un consumo de calorías alto de BIB (85 kcal; 29%), aunque el consumo de leche es el que más calorías aporta, al sumar 95 kcal (33%) de la ingesta de bebidas.

De manera interesante se observa que el consumo de calorías provenientes de las BIB disminuye con la edad. Para el grupo de entre 19 y 30 años, la ingesta calórica

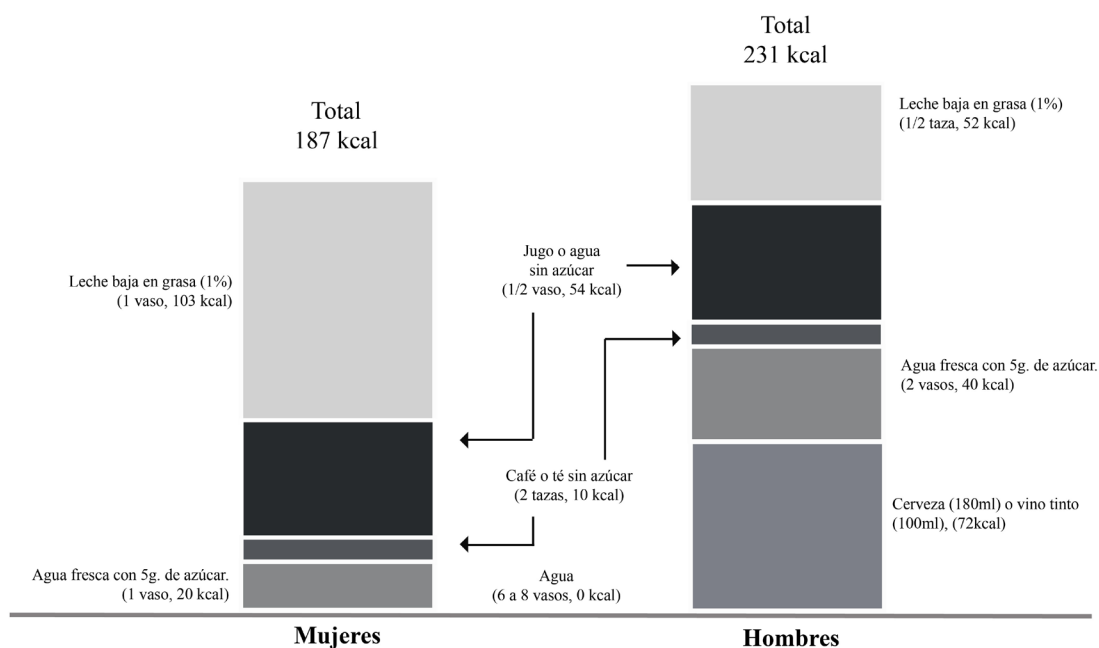


Figura 1. Recomendación de Consumo de Bebidas 2006 por género.

Fuente: Patrones de consumo en mililitros y kilocalorías propuestos por el Comité de Expertos para las Recomendaciones de Bebidas en el año 2008 (1).

**Tabla 2.** Aporte energético de las Bebidas Habituales consumidas por adultos (>19 años) en México. ENSANUT 2012.

Grupo	Total	Sexo <sup>a</sup>		Edad			Área <sup>b</sup>		NSE <sup>c</sup>			
		H	M	19-30	30-60	>60	U	R	B	M	A	
	n	3056	1240	1816	813	1683	560	2001	1055	1070	1034	952
Total	kcal (SE)	341 (7)	399 (12)	292 (8)	368 (14)	341 (10)	305 (12)	353 (9)	307 (10)	310 (12)	343 (12)	360 (12)
	P-value		ref	0.02	ref	0.12	<0.01	ref	<0.01	ref	0.05	<0.01
Leche	kcal (SE)	92 (3)	90 (5)	95 (4)	91 (6)	86 (4)	111 (9)	99 (4)	70 (4)	62 (4)	97 (5)	108 (6)
	P-value		ref	0.42	ref	0.53	0.06	ref	<0.01	ref	<0.01	<0.01
	%	27	23	33	25	25	36	28	23	20	28	30
Café o té	kcal (SE)	40 (1)	39 (2)	40 (2)	38 (3)	43 (2)	35 (3)	39 (2)	43 (2)	39 (2)	40 (2)	40 (3)
	P-value		ref	0.82	ref	0.15	0.37	ref	0.13	ref	0.78	0.66
	%	12	10	14	10	13	11	11	14	13	12	11
Jugos	kcal (SE)	29 (2)	29 (3)	28 (2)	35 (4)	29 (2)	21 (3)	29 (2)	28 (3)	28 (4)	25 (3)	32 (2)
	P-value		ref	0.32	ref	0.16	<0.01	ref	0.77	ref	0.34	0.49
	%	9	7	10	10	9	7	8	9	9	7	9
BIA <sup>d</sup>	kcal (SE)	2 (0)	2 (0)	3 (0)	3 (1)	3 (0)	1 (1)	3 (0)	2 (0)	2 (0)	2 (0)	3 (1)
	P-value		ref	0.72	ref	0.74	0.07	ref	0.05	ref	0.48	0.06
	%	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
BIB <sup>e</sup>	kcal (SE)	97 (4)	111 (6)	85 (5)	120 (8)	96 (5)	68 (8)	105 (5)	74 (4)	81 (5)	106 (7)	100 (6)
	P-value		ref	<0.01	ref	<0.01	<0.01	ref	<0.01	ref	<0.01	0.03
	%	28	28	29	33	28	22	30	24	26	31	28
Alcohol	kcal (SE)	58 (4)	101 (8)	20 (3)	66 (8)	62 (6)	33 (6)	58 (5)	57 (7)	67 (10)	50 (7)	57 (6)
	P-value		ref	<0.01	ref	0.70	<0.01	ref	0.93	ref	0.15	0.36
	%	17	25	7	18	18	11	16	19	22	15	16
Atole	kcal (SE)	23 (2)	23 (4)	21 (2)	16 (2)	23 (3)	35 (6)	20 (2)	33 (3)	30 (3)	22 (3)	20 (4)
	P-value		ref	0.32	ref	0.07	<0.01	ref	<0.01	ref	0.05	0.04
	%	7	6	7	4	7	11	6	11	10	6	6

Elaboración propia con base en la Frecuencia de Consumo de Alimentos, ENSANUT 2012 (17).

<sup>a</sup>Sexo: Hombre (H), Mujer (M) <sup>b</sup>Área: Urbana (U), Rural (R) <sup>c</sup>Nivel Socioeconómico: Bajo (B), Medio (M), Alto (A) <sup>d</sup>Bebidas Industrializadas A (BIA): Bebidas industrializadas con edulcorantes no calóricos. <sup>e</sup>Bebidas Industrializadas B (BIB): Bebidas industrializadas con edulcorantes calóricos

diaria alcanza (120 kcal; 33% del total), mientras que para el grupo de entre 30 y 60 años la ingesta desciende a 96 kcal (28%) y aumenta nuevamente en la población mayor de 60 años (68 kcal; 22%).

Respecto a la ingesta calórica de BIB por regiones, se registra una diferencia significativa en el consumo de bebidas entre la región Sur (75 kcal; 24%) respecto a la región Norte (110 kcal; 30%; región de referencia). También se registra una diferencia

significativa (ver p-values) en el consumo de BIB entre el estrato urbano de la población (105 kcal; 30%), respecto al estrato rural (74 kcal; 24%). Lo mismo sucede para la ingesta en calorías del grupo de la leche, que alcanza 99 kcal (28%) para el estrato urbano, comparado con 70 kcal (23%) para el estrato rural.

El consumo de bebidas total aumenta conforme aumenta el nivel socioeconómico al pasar de 310

kcal, a 343 kcal y a 360 kcal en los estratos bajo, medio y alto respectivamente. La ingesta calórica de leche se incrementa de manera gradual y significativa entre los distintos estratos socioeconómicos al pasar de 62 kcal (20% del total) en el nivel bajo, a 97 kcal (28%) en el nivel medio y hasta 108 kcal (30%) en el nivel alto. El consumo de calorías promedio

proveniente de las BIB para los estratos bajos pasa de 81 kcal (26%) a 106 kcal (31%) en el estrato medio y a 100 kcal (28%) en el estrato alto.

#### *Costo de las bebidas habituales y Jarra de Bebidas Recomendada*

La Tabla 3 presenta el costo de cada bebida y el costo

**Tabla 3.** Costo promedio de las Bebidas Habituales consumidas por adultos (>19 años) en México. ENSANUT 2012.

Grupo	Total	Sexo <sup>a</sup>		Edad			Área <sup>b</sup>			NSE <sup>c</sup>		
		H	M	19-30	30-60	>60	U	R	B	M	A	
	n	3056	1240	1816	813	1683	560	2001	1055	1070	1034	952
Total	\$MXN	13.24	15.20	11.58	14.35	13.49	11.01	13.62	12.06	11.93	13.44	13.90
	(SE)	(0.22)	(0.36)	(0.27)	(0.47)	(0.31)	(0.36)	(0.27)	(0.37)	(0.39)	(0.37)	(0.39)
	P-value		ref	<0.01	ref	0.12	<0.01	ref	<0.01	ref	<0.01	<0.01
Leche	\$MXN	2.09	2.03	2.16	2.03	1.97	2.55	2.27	1.58	1.38	2.16	2.50
	(SE)	(0.07)	(0.12)	(0.09)	(0.13)	(0.09)	(0.22)	(0.09)	(0.10)	(0.08)	(0.12)	(0.14)
	P-value		ref	0.41	ref	0.53	0.06	ref	<0.01	ref	<0.01	<0.01
	%	16	13	19	14	15	23	17	13	12	16	18
Café o té	\$MXN	0.41	0.42	0.40	0.33	0.43	0.46	0.40	0.42	0.40	0.38	0.43
	(SE)	(0.01)	(0.02)	(0.02)	(0.03)	(0.02)	(0.04)	(0.02)	(0.02)	(0.02)	(0.02)	(0.03)
	P-value		ref	0.56	ref	<0.01	<0.01	ref	0.64	ref	0.50	0.55
	%	3	3	3	2	3	4	3	3	3	3	3
Jugos	\$MXN	1.44	1.44	1.44	1.71	1.50	0.90	1.45	1.40	1.33	1.25	1.65
	(SE)	(0.08)	(0.11)	(0.10)	(0.16)	(0.10)	(0.14)	(0.09)	(0.12)	(0.13)	(0.12)	(0.13)
	P-value		ref	0.99	ref	0.26	<0.01	ref	0.72	ref	0.64	0.08
	%	11	9	12	12	11	8	11	12	11	9	12
BIA <sup>d</sup>	\$MXN	0.43	0.45	0.41	0.41	0.49	0.28	0.48	0.27	0.29	0.39	0.55
	(SE)	(0.05)	(0.08)	(0.06)	(0.08)	(0.07)	(0.08)	(0.06)	(0.05)	(0.06)	(0.09)	(0.08)
	P-value		ref	0.67	ref	0.49	0.24	ref	0.01	ref	0.35	<0.01
	%	3	3	4	3	4	3	4	2	2	3	4
BIB <sup>e</sup>	\$MXN	2.69	3.08	2.37	3.37	2.65	1.89	2.90	2.06	2.26	2.97	2.75
	(SE)	(0.10)	(0.16)	(0.14)	(0.22)	(0.13)	(0.22)	(0.13)	(0.11)	(0.13)	(0.19)	(0.18)
	P-value		ref	<0.01	ref	<0.01	<0.01	ref	<0.01	ref	<0.01	0.03
	%	20	20	20	23	20	17	21	17	19	22	20
Alcohol	\$MXN	1.42	2.61	0.42	1.78	1.46	0.82	1.42	1.42	1.61	1.28	1.42
	(SE)	(0.11)	(0.23)	(0.06)	(0.25)	(0.15)	(0.17)	(0.13)	(0.19)	(0.24)	(0.17)	(0.17)
	P-value		ref	<0.01	ref	0.28	<0.01	ref	0.98	ref	0.52	0.27
	%	11	17	4	12	11	7	10	12	13	10	10
Agua	\$MXN	4.49	4.90	4.14	4.53	4.74	3.73	4.46	4.60	4.34	4.76	4.37
	(SE)	(0.10)	(0.18)	(0.12)	(0.24)	(0.13)	(0.21)	(0.13)	(0.18)	(0.15)	(0.20)	(0.17)
	P-value		ref	<0.01	ref	0.44	0.01	ref	0.52	ref	0.11	0.9
	%	34	32	36	32	35	34	33	38	36	35	31
Atole	\$MXN	0.26	0.27	0.24	0.18	0.25	0.38	0.23	0.33	0.30	0.25	0.23
	(SE)	(0.02)	(0.04)	(0.02)	(0.03)	(0.03)	(0.06)	(0.03)	(0.03)	(0.03)	(0.04)	(0.04)
	P-value		ref	0.56	ref	0.15	<0.01	ref	0	ref	0.27	0.19
	%	2	2	2	1	2	3	2	3	3	2	2

Elaboración propia con base en la Frecuencia de Consumo de Alimentos, ENSANUT 2012 (17).

<sup>a</sup>Sexo: Hombre (H), Mujer (M) <sup>b</sup>Área: Urbana (U), Rural (R) <sup>c</sup>Nivel Socioeconómico: Bajo (B), Medio (M), Alto (A) <sup>d</sup>Bebidas Industrializadas A (BIA): Bebidas industrializadas con edulcorantes no calóricos. <sup>e</sup>Bebidas Industrializadas A (BIB): Bebidas industrializadas con edulcorantes calóricos.

total en el mes de Enero de 2012. El costo promedio de las bebidas habituales alcanzó un total de \$13.24 Pesos diarios. El más alto fue el costo del agua envasada que alcanzó \$4.49 Pesos promedio diarios, además de ser la bebida de mayor consumo (905 ml). Después del agua, el costo

promedio diario de las bebidas industrializadas con azúcar (BIB) sujetas a impuesto desde enero de 2014 alcanzó \$2.69 Pesos por habitante, lo que también se explica por su alto consumo (244 ml, Tabla 4 ).

**Tabla 4.** Consumo de bebidas de una dieta habitual y de la Jarra de Bebidas Recomendada (JBR) en ml.

Grupo	Total	Sexo <sup>a</sup>		Edad			Área <sup>b</sup>			NSE <sup>c</sup>		
		H	M	19-30	30-60	>60	U	R	B	M	A	
	n	3056	1240	1816	813	1683	560	2001	1055	1070	1034	952
Total	ml	1658	1817	1523	1724	1708	1425	1685	1573	1524	1703	1707
	(SE)	(25)	(39)	(32)	(55)	(35)	(47)	(30)	(45)	(42)	(44)	(43)
	P-value§		ref	<0.01	ref	0.81	<0.01	ref	0.04	ref	<0.01	<0.01
Leche	ml	160	155	164	155	150	194	172	120	105	166	189
	(SE)	(6)	(9)	(7)	(9)	(7)	(17)	(7)	(8)	(6)	(9)	(10)
	P-value§		ref	0.46	ref	0.69	0.04	ref	<0.01	ref	<0.01	<0.01
	%	10	9	11	9	9	14	10	8	6	10	11
Café o té	ml	97	97	108	70	98	129	98	93	94	86	106
	(SE)	(4)	(7)	(7)	(7)	(6)	(13)	(5)	(7)	(7)	(7)	(8)
	P-value§		ref	0.93	ref	<0.01	<0.01	ref	0.59	ref	0.2	0.56
	%	6	6	7	4	6	9	6	6	6	5	6
Jugos	ml	148	148	148	178	154	91	150	143	135	129	171
	(SE)	(8)	(11)	(11)	(17)	(11)	(14)	(10)	(12)	(12)	(13)	(14)
	P-value§		ref	0.98	ref	0.22	<0.01	ref	0.67	ref	0.05	0.71
	%	9	8	10	10	9	6	9	9	9	8	10
BIA <sup>d</sup>	ml	30	32	28	28	34	20	33	18	20	27	38
	(SE)	(3)	(6)	(4)	(6)	(5)	(5)	(4)	(4)	(4)	(7)	(6)
	P-value§		ref	0.60	ref	0.40	0.29	ref	<0.01	ref	<0.01	0.35
	%	2	2	2	2	2	1	2	1	1	2	2
BIB <sup>e</sup>	ml	244	279	214	301	241	172	262	186	205	268	250
	(SE)	(9)	(14)	(12)	(20)	(12)	(21)	(12)	(10)	(12)	(17)	(16)
	P-value§		ref	<0.01	ref	0.01	<0.01	ref	<0.01	ref	<0.01	0.03
	%	15	15	14	17	14	12	16	12	13	16	15
Alcohol	ml	49	90	14	61	50	28	49	49	55	44	49
	(SE)	(4)	(8)	(2)	(9)	(5)	(6)	(5)	(6)	(8)	(6)	(6)
	P-value§		ref	<0.01	ref	0.28	<0.01	ref	0.98	ref	0.52	0.27
	%	3	5	1	4	3	2	3	3	4	3	3
Agua	ml	905	989	835	914	956	753	898	927	876	955	882
	(SE)	(21)	(36)	(24)	(48)	(27)	(42)	(25)	(37)	(31)	(41)	(34)
	P-value§		ref	<0.01	ref	0.44	0.01	ref	0.52	ref	0.90	0.11
	%	55	54	55	53	56	53	53	59	57	56	52
Atole	ml	25	28	23	17	25	38	22	36	33	23	22
	(SE)	(2)	(4)	(2)	(3)	(3)	(6)	(3)	(4)	(3)	(3)	(4)
	P-value§		ref	0	ref	0	<0.01	ref	<0.01	ref	0	0
	%	2	2	2	1	1	3	1	2	2	1	1

Fuente: Consumo total y Habitual: Elaboración propia con base en la Frecuencia de Consumo de Alimentos, ENSANUT 2012 y Patrones de consumo de Bebidas Recomendadas donde se considera que cada taza o vaso equivale a 240 ml.

§ Prueba t para la diferencia ponderada de medias. El p value indica el nivel de significancia de la diferencia entre las categorías. Ref indica la categoría de referencia. <sup>a</sup>BIA: Bebidas industrializadas sin azúcar. <sup>b</sup>BIB: Bebidas industrializadas con azúcar. <sup>c</sup>1/2 taza de leche baja en grasa (1%). <sup>d</sup>2 tazas de café o té sin azúcar. <sup>e</sup>2 vasos de agua fresca con 5 gramos de azúcar por vaso y medio vaso de jugo de frutas sin azúcar. <sup>f</sup>1 vaso de agua fresca con 5 gramos de azúcar y medio vaso de jugo de frutas sin azúcar. <sup>g</sup>180ml de cerveza o 100ml de vino tinto. <sup>h</sup>6 a 8 vasos de agua.

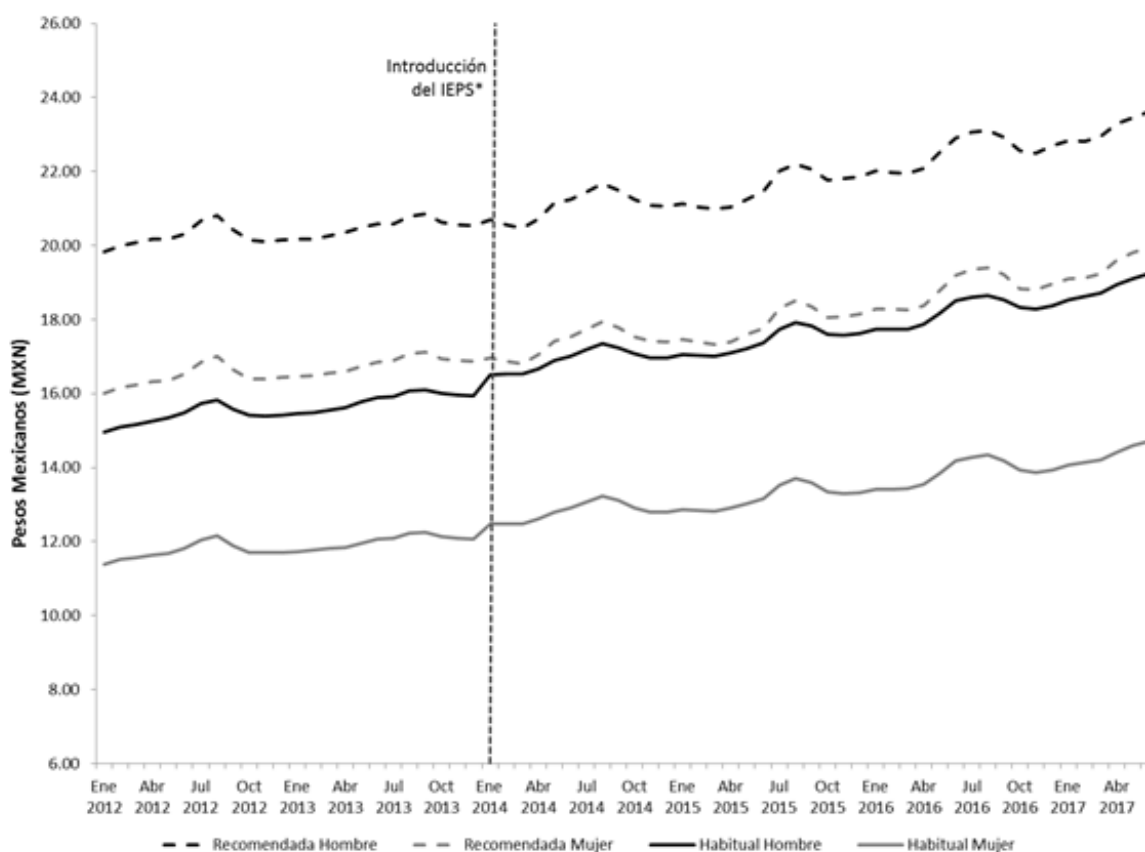
La Tabla 3 también muestra la distribución de los costos de las bebidas habituales por estrato. Los hombres enfrentan un costo de BIB's mayor (\$3.08 Pesos) que el de las mujeres (\$2.37 Pesos) y el costo diario tiende a reducirse con la edad: \$3.37 para edades de 19-30 años; a \$2.65 de 30-60 años y de \$1.89 Pesos para edades mayores a 60 años. Esta reducción gradual del presupuesto se explica naturalmente por un menor nivel de consumo de acuerdo a la edad.

El costo de las BIB's no difiere significativamente entre regiones excepto la región Sur que presenta el costo (\$2.07 Pesos diarios) y consumo (75 ml) más bajos. Las zonas urbanas reportan un costo mayor (\$2.90) que las zonas rurales (\$2.06). Finalmente,

el costo de las BIB's en los estratos medios (\$2.97) y altos (\$2.75) es mayor que el estrato bajo (\$2.26), de nueva cuenta explicado por el patrón de consumo.

*Comportamiento temporal de los costos de la jarra de bebidas*

La figura 2 muestra el costo mensual del Consumo de la Canasta de Bebidas Habitual (COBHA) y el Consumo de la Canasta de Bebidas Habitual (COBRE), distinguiendo por género, para el periodo Enero 2012 - Junio 2017. En general, el costo histórico de la Jarra de Bebidas Recomendada es mayor que el costo del Consumo Habitual de Bebidas del Mexicano, lo que revela una diferencia en preferencias. También se observa que, independientemente del tipo de consumo, el costo en que incurren los hombres es mayor que el de las mujeres, debido al mayor consumo de bebidas en mililitros.



**Figura 2.** Costo Mensual del Consumo de Bebidas Recomendadas y Consumo de Bebidas Habitual por género (Enero 2012-Mayo 2017).

Elaboración propia con base en la Frecuencia de Consumo de Alimentos, ENSANUT 2012 y Jarra de Bebidas Recomendada (1). Año base 2012. Jarra Saludable: Hombres (1817 ml, 448kcal), Mujeres (1523 ml, 284kcal). Jarra Habitual: Hombres (1,743 ml, 357 kcal), Mujeres (1,772 ml, 291kcal) \* IEPS es el Impuesto Especial sobre Producción y Servicios aplicado a los alimentos y bebidas no saludables (13,14).

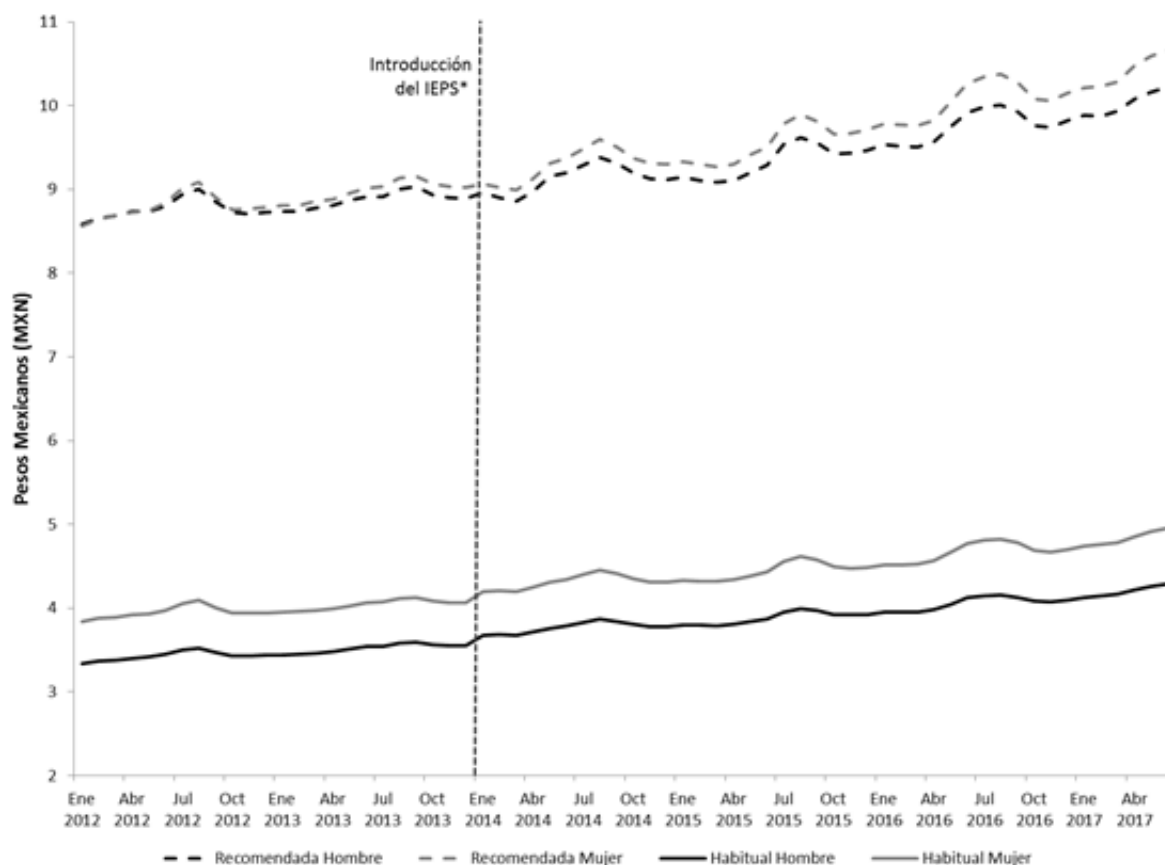
Con el fin de hacer comparables los costos entre las bebidas de la jarra de bebidas recomendadas y la de consumo habitual se calcula el costo de 100 kcal por tipo de bebidas que la integran. De acuerdo con los cálculos totales y de manera similar a los estudios que evalúan la densidad energética y su relación con el costo de los alimentos, este estudio verifica que las bebidas con baja densidad calórica, aquellas con menor aporte contenido calórico en base a azúcares añadidos, presentan un mayor costo en el tiempo (ver líneas punteadas en figura 3).

*Inflación anual del costo de las bebidas habituales recomendadas*

El costo de la Jarra de Bebidas Recomendada es en general más alto que el costo de la Jarra Habitual. La figura 4 muestra sin embargo que, en términos del crecimiento en

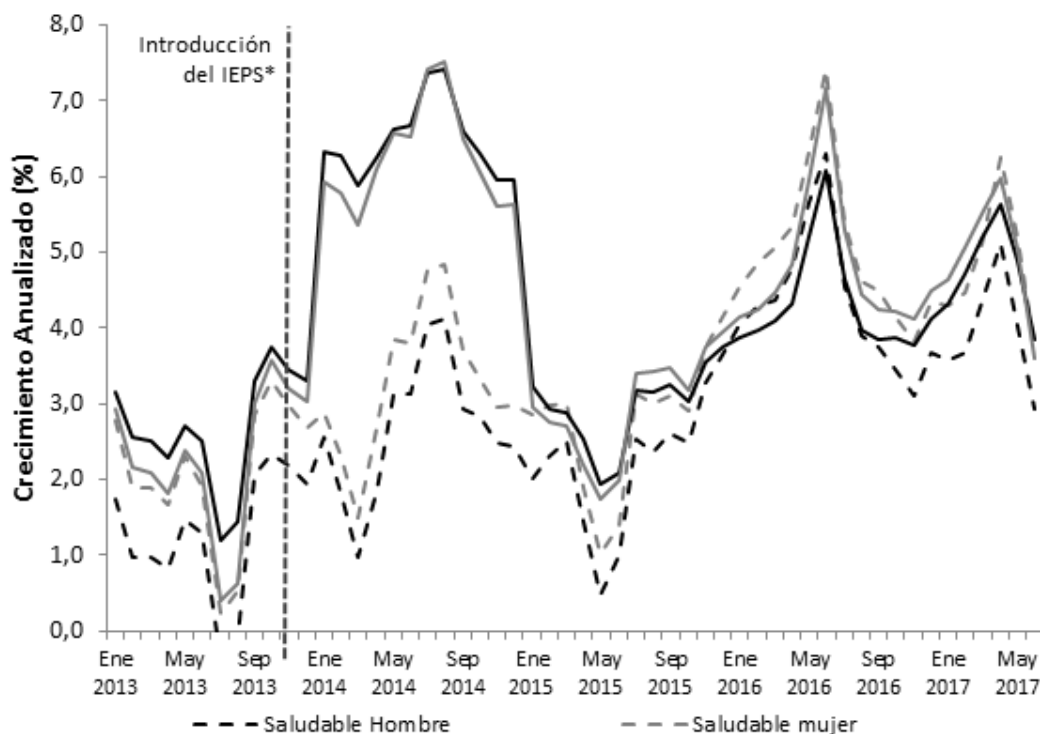
los precios de estos productos (inflación anual), el costo de las bebidas habituales fue mayor que el crecimiento del costo de la Jarra de Bebidas Recomendada desde el inicio de la muestra y hasta principios de 2015. Esta diferencia en la dinámica inflacionaria de los costos fue mucho más amplia después de la introducción del impuesto a las bebidas azucaradas y el efecto se mantuvo sólo hasta enero de 2015. De esa fecha en adelante la diferencia se disipa junto con el impacto del gravamen, el cual no tuvo influencia visible en meses subsecuentes.

El impacto del impuesto a bebidas azucaradas sobre la dinámica inflacionaria, sobre el costo de bebidas habituales y el costo de las bebidas recomendadas (figuras 3 y 4), se refleja en el



**Figura 3.** Costo Mensual del Consumo de Bebidas Recomendadas y Consumo de Bebidas Habituales por cada 100 kcal (Enero 2012-Mayo 2017)

Elaboración propia con base en la Frecuencia de Consumo de Alimentos, ENSANUT 201220 y Jarra de Bebidas Recomendada (1). Año base 2012. \* IEPS es el Impuesto Especial sobre Producción y Servicios aplicado a los alimentos y bebidas no saludables (13,14).



**Figura 4.** Incremento porcentual en el Costo de la Jarra de Bebidas Saludable y la Jarra de Bebidas Habitual (Enero 2012 – Junio 2017).

Elaboración propia con base en el Índice de Precios Promedio de INEGI. \* IEPS es el Impuesto Especial sobre Producción y Servicios aplicado a los alimentos y bebidas no saludables (13,14).

cambio del gradiente de precios desde enero de 2014, pero incluso desde la puesta en marcha de la ley que aprueba el impuesto a las bebidas en octubre de 2013. El efecto del impuesto se refleja con mayor fuerza sobre la inflación del costo de las bebidas habituales en la figura 4, cuando la inflación habitual pasó de alrededor de 3.7% en octubre de 2013, hasta 7.5% anual en agosto de 2014. De manera interesante, observamos que la inflación anual del Consumo Habitual mantuvo el desplazamiento al alza, incluso rebasando la inflación de la canasta básica durante todo 2014 (áreas sombreadas), hasta enero de 2015. Dado este comportamiento, el impuesto a las bebidas azucaradas fue efectivo pero transitorio al asociarse con tasas de inflación de las bebidas habituales más altas y, al mismo tiempo, con tasas de inflación anual del costo de la Jarra Recomendada más bajas.

## Discusión

Estudios anteriores han mostrado que el costo de las dietas de baja densidad energética es mayor que el costo de las dietas con alto contenido energético (14,19). Otros estudios no encuentran diferencia entre los costos de alimentos de alta (dulces o grasas) o baja densidad energética (frutas frescas) (20). Este estudio, sin embargo, encuentra que el costo promedio de la Jarra de Bebidas Habituales de alta densidad energética es consistentemente más bajo que el costo de la Jarra de Bebidas Recomendada, lo que pudiera explicar la preferencia de la población por mayor consumo de bebidas de alto contenido energético y, posiblemente, el mayor sobrepeso y la obesidad de la población mexicana. Esta evidencia se suma a estudios recientes que han reportado que la dieta habitual del mexicano es en general de menor costo que las dietas saludables (15,16).

En términos de crecimiento de los costos, el estudio encuentra que la inflación anual de las bebidas habituales fue mayor

que la inflación de las bebidas recomendadas desde la implementación del impuesto en 2014 y hasta marzo de 2015. La diferencia inflacionaria fue más amplia en los primeros diez meses siguientes a la introducción del impuesto a las bebidas con azúcares añadidos, lo que sugiere que este gravamen fue efectivo, pero sólo de manera transitoria y que el impuesto debería estar acompañado de medidas que refuercen la educación alimentaria (1), entre otras. Otros estudios han reportado incrementos en los precios de bebidas con azúcares añadidos desde enero de 2014 y hasta noviembre de ese año, cuando empezó a reducirse el efecto del impuesto (21). En un estudio posterior se reporta que el impuesto a las bebidas azucaradas no se trasladó de manera proporcional a los precios (22). La baja persistencia del impuesto sugiere que una reducción del consumo de bebidas azucaradas, así como la eventual baja de sobrepeso y obesidad en el largo plazo, requieren de una política global sobre sus determinantes para lograr una mejora sostenible en el largo plazo.

En este estudio también encontramos que los estratos socioeconómicos medios y altos muestran un mayor consumo calórico de bebidas con edulcorantes (106 kcal, 100 kcal) que los estratos más bajos (81 kcal) (Tabla 1), incluso cuando estos estratos medios y altos enfrentan un mayor costo promedio (Tabla 2). Este resultado es consistente con la prevalencia de la obesidad que tiende a ser mayor en los estratos medios y altos (72.7%, 73.5%), en relación con los estratos más bajos (65.7%) (23).

En nuestros resultados también encontramos un costo elevado del agua en relación con otras bebidas de menor interés nutricional, lo que refleja una barrera a su acceso, de manera particular en los grupos de edad de entre 30 y 60 años. El costo promedio del agua también es mayor en áreas rurales, lo que podría indicar escasez de agua potable y falta de seguridad en el acceso (resultado no estadísticamente significativo). En este sentido, se recomienda retomar la propuesta de establecer puntos de acceso al agua segura y gratuita en todos los centros escolares del país (23,24). También es importante examinar la estrategia impositiva por producto y, en su caso, revertir el impuesto a bebidas cuyo aumento en consumo sea deseable.

La aportación calórica del alcohol en cada uno de los estratos es la tercera más importante después de la leche y las bebidas azucaradas, y su costo promedio es tres veces menor que el del agua. El alto consumo de alcohol

puede constituirse en un riesgo para la salud en la población examinada en este estudio (5). Este resultado sugiere que deberían buscarse medidas y mecanismos que reduzcan la disponibilidad de alcohol a través de los canales de distribución y venta (23), de reducción de publicidad, de impuestos específicos, entre otras, así como mejorar el acceso a bebidas con mayor aporte nutricional.

De los resultados analíticos de la ENSANUT 2012 se encuentra un alto nivel de sedentarismo que, combinado con nuestro hallazgo de alto consumo de bebidas con edulcorantes, requieren de estrategias para aumentar la disponibilidad y accesibilidad de bebidas sin edulcorantes calóricos añadidos (24), así como fomentar el incremento de la actividad física.

## **Conclusiones**

Este trabajo estudia el comportamiento de los costos y la inflación del consumo de bebidas recomendadas y del consumo de bebidas habituales en México. También evalúa el impacto del impuesto a las bebidas en efecto desde enero de 2014. El estudio encuentra que el Costo de la Jarra de Bebidas Recomendadas es en general más alto que el Costo de la Jarra de Bebidas Habitual, lo que puede desviar el consumo a bebidas de alto contenido energético y explicar las altas tasas de sobrepeso y obesidad en México.

Aún falta modelar formalmente características como la estacionariedad y la persistencia del choque impositivo sobre la dinámica de corto y largo plazo de los costos y de la inflación de ambos tipos de bebidas respectivamente. Otro tema de interés futuro puede ser la modelación de la volatilidad condicional de los costos y de la inflación. Asimismo, se debe evaluar el impacto potencial de subsidios a bebidas recomendadas, la pertinencia del propio impuesto en entornos inflacionarios, diseños alternativos de impuestos como el chileno, sobre los nutrientes o sobre alimentos (25).

## Referencias

- Rivera JA, Muñoz-Hernández O, Rosas-Peralta M et al. Consumo de bebidas para una vida saludable: recomendaciones para la población mexicana. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2008; 65(3):208-237. Disponible en: <http://ref.scielo.org/q2bvxy>
- Barrera-Cruz A, Rodríguez-González A, Molina-Ayala M. Escenario actual de la obesidad en México. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2013; 51(3): 292-299. PMID: 23883458
- Soto H, Pérez I, Azamar A, Diaz JP, Pizarro M et al. Carga económica de la obesidad y sus comorbilidades en pacientes adultos en México. *Pharmacoecon Span Res Artic*. 2015; 12(4):115-122. Doi:10.1007/s40277-015-0045-3
- Popkin, B. Hawkes, C. Sweetening of the global diet, particularly beverages: patterns, trends, and policy responses. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015; 4(2): 174-186. Doi:[https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(15\)00419-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(15)00419-2).
- Gómez-Miranda LM, Bacardí-Gascón M, Caravali-Meza NY, Jiménez-Cruz Arturo. Consumo de bebidas energéticas, alcohólicas y azucaradas en jóvenes universitarios de la frontera México-USA. *Nutr Hosp [Internet]*. 2015; 31(1): 191-195. Doi: <http://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.8094>.
- Lavie CJ, De Schutter A, Parto P, Jahangir E, Kokkinos P, Ortega FB, Arena R, Milani RV. Obesity and prevalence of cardiovascular diseases and prognosis—The obesity paradox updated. *Prog Cardiovasc Dis*. 2016; 58(5):537-547. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2016.01.008>
- Imamura F, O'Connor L, Ye Z, et al. Consumption of sugar sweetened beverages, artificially sweetened beverages, and fruit juice and incidence of type 2 diabetes: systematic review, meta-analysis, and estimation of population attributable fraction. *Br J Sports Med*. 2016; 50:496-504. Doi: <http://dx.doi.org/10.1136/bjsports-2016-h3576rep>
- Patriantoro L, Devaera Y, Bardosono S, Fauzia K, Khoirunnisa M, Saptarini D. Correlation between the consumption frequency of sugar sweetened beverages with serum triglyceride levels in female adolescents. *World Nutr Journal*. 2019; 2(2):38-42. Doi: 10.25220/WNJ.V02.i2.0007
- Dinicolaantonio JJ, O'Keefe J, Lucan SC. An unsavory truth: sugar, more than salt, predisposes to hypertension and chronic disease. *Am J Cardiol*. 2014; 114(7):1126-1128. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2014.07.002>
- Gill T, editor. *Managing and Preventing Obesity: Behavioural Factors and Dietary Interventions*. United Kingdom: Elsevier; 2015. 372 p. Available from: <https://www.elsevier.com/books/managing-and-preventing-obesity/gill/978-1-78242-091-0> Doi: <https://doi.org/10.1016/C2013-0-16456-2>
- Popkin B, Armstrong L, Bray G, Caballero B et al. A new proposed guidance system for beverage consumption in the United States. *Am J Clin Nutr*. 2006 Mar;83(3):529-542. Doi: 10.1093/ajcn.83.3.529
- Servicio de Administración Tributaria (SAT). 29 de Mayo de 2014. Impuesto a Bebidas Saborizadas con Azúcares Añadidas. Disponible en: [http://m.sat.gob.mx/fichas\\_tematicas/reforma\\_fiscal/Paginas/bebidas\\_saborizadas\\_azucars\\_2014.aspx](http://m.sat.gob.mx/fichas_tematicas/reforma_fiscal/Paginas/bebidas_saborizadas_azucars_2014.aspx)
- Servicio de Administración Tributaria (SAT). 20 de Mayo de 2014. Impuesto a alimentos no básicos con alta densidad calórica. Disponible en: [http://m.sat.gob.mx/fichas\\_tematicas/reforma\\_fiscal/Paginas/alimentos\\_nobasicos\\_densidad-calorica2014.aspx](http://m.sat.gob.mx/fichas_tematicas/reforma_fiscal/Paginas/alimentos_nobasicos_densidad-calorica2014.aspx)
- Drewnowski A, Darmon N. The economics of obesity: dietary energy density and energy cost. *Am J Clin Nutr*. 2005 Jul;82:265S-273S. Doi: 10.1093/ajcn/82.1.265S.
- Mendoza A. Índice de Paridad Poder de Compra Nutricional: comparación de los precios calóricos entre dietas habituales y saludables. *Rev Panam Salud Pública*. 2012;31(1)17-24. <http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/9397>
- Mendoza A, Pérez AE, Aggarwal A, Drewnowski A. Energy density of foods and diets in Mexico and their monetary cost by socioeconomic strata: analyses of ENSANUT data 2012. *J Epidemiol Community Health* 2017;71:713-721. Doi: <http://dx.doi.org/10.1136/jech-2016-207781>
- Gutiérrez J, Rivera-Dommarco J, Villalpando-Hernández S, et al. (2012). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Resultados Nacionales 2012. Instituto Nacional de Salud Pública. 2012. Disponible en: <http://ensanut.insp.mx/>
- Stern D, Piernas C, Barquera S, Rivera J, Popkin B. Caloric Beverages Were Major Sources of Energy among Children and Adults in Mexico, 1999-2012. *J Nutr*. 2014 Jun;144(6):949-56. Doi: 10.3945/jn.114.190652.
- Fulgoni V III, Drewnowski A. An economic gap between the recommended healthy food patterns and existing diets of minority groups in the US national health and nutrition examination survey 2013-14, *Front Nutr*. 2019;6(37). Doi: 10.3389/fnut.2019.00037
- Davis GC, Carlson A. The inverse relationship between food price and energy density: is it spurious?. *Public Health Nutr*. 2015; 18(6):1091-7. Doi: 10.1017/S1368980014001098
- Colchero MA, Salgado JC, Unar-Munguía M, et al. Changes in Prices After an Excise Tax to Sweetened Sugar Beverages Was Implemented in Mexico: Evidence from Urban Areas. *PLoS ONE*. 2015;10(12) Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144408>
- Colchero MA, Zavala JA, Batis C, Shamah-Levy T, Rivera-Dommarco J A. Cambios en los precios de bebidas y ali-

- mentos con impuesto en áreas rurales y semirurales de México. *Salud Pública Mex.* 2017;59(2):137-146. Doi: <http://dx.doi.org/10.21149/7994>
23. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, ENSANUT 2012. Obesidad en adultos: los retos de la cuesta abajo. Evidencia para la Política Pública en Salud. Documentos Analíticos, México: Instituto Nacional de Salud Pública: 2012. Disponible en: <https://ensanut.insp.mx/doctos/analiticos/ObesidadAdultos.pdf>
24. González ChA *et al.* Posición de consenso sobre las bebidas con edulcorantes no calóricos y su relación con la salud. *Rev Mex Cardiol*, 2013. 24(2):55-68.
25. Harding M, Lovenheim M. The effect of prices on nutrition: Comparing the impact of product- and nutrient-specific taxes, *J Health Econ*, Elsevier, 2017; 53(C), pp. 53-71 Doi: 10.1016/j.jhealeco.2017.02.003

Recibido: 28/02/2019  
Aceptado: 29/07/2019

## Obtención de hidrolizados proteicos bajos en fenilalanina a partir de suero dulce de leche y chachafruto (*Erythrina edulis* Triana)

Franklin Villafuerte,<sup>1,2</sup> Elevina Pérez,<sup>3</sup> Antonieta Mahfoud,<sup>4</sup> Yolmar Valero,<sup>1</sup> Amaury Pérez Martínez.<sup>2,5\*</sup>

**Resumen:** Obtención de hidrolizado proteicos bajos en fenilalanina a partir de suero dulce de leche y chachafruto (*Erythrina edulis* Triana). La fenilcetonuria (PKU) es causada por una actividad deficiente de la enzima fenilalanina hidroxilasa. En los pacientes con esta deficiencia la fenilalanina (Phe) no puede ser convertida en tirosina, aumentando sus niveles en sangre y de otros metabolitos neurotóxicos, provocando un retraso mental irreversible. El tratamiento fundamentalmente se basa en una dieta controlada de Phe. Sin embargo, los alimentos libres o bajos en Phe son escasos. El objetivo de esta investigación es obtener hidrolizados proteicos con bajo contenido de Phe a partir del suero dulce de leche en polvo y harina de *E. edulis* Triana. El aislado proteico (96,01% proteína cruda) se obtuvo por solubilización y precipitación de las proteínas de la harina, mientras que las proteínas del suero (15,69% proteína cruda) fueron tratadas en su matriz original. Las proteínas del suero y el aislado fueron hidrolizadas enzimáticamente con pepsina y proteasa de *Streptomyces griseus*. La concentración de Phe se determinó por fluorometría y por HPLC, de lo cual la Phe de las proteínas del suero es liberada una hora antes que las del chachafruto, debido a que las proteínas del suero en parte fueron hidrolizadas en la elaboración del queso. Además, los resultados de la utilización del carbón activados como captor de Phe indican la reducción total del contenido de este aminoácido en los hidrolizados y la reducción de la concentración de otros aminoácidos. **ALAN, 2019; 69(1): 25-33.**

**Palabras clave:** Fenilcetonuria; fenilalanina; aislado proteico; hidrolizados proteicos; *Erythrina edulis*; chachafruto.

**Summary:** Obtaining protein products low in phenylalanine from milk whey and chachafruto (*Erythrina edulis* Triana). Phenylketonuria (PKU) is caused by a low activity of the enzyme phenylalanine hydroxylase. In patients with this deficiency, phenylalanine (Phe) cannot be converted to tyrosine, increasing blood levels and other neurotoxic metabolites, causing irreversible mental retardation. The treatment is fundamentally based on a controlled diet of Phe. However, free or low-Phe foods are scarce. The objective of this research is to obtain protein hydrolysates with low Phe content from sweet milk powder and *E. edulis* Triana flour. The protein isolate (96.01% crude protein) was obtained by solubilization and precipitation of the flour proteins, while the whey proteins (15.69% crude protein) were treated in their original matrix. Serum and asylated proteins were enzymatically hydrolyzed with pepsin and *Streptomyces griseus* protease. The concentration of Phe was determined by fluorometry and by HPLC, from which the Phe of whey proteins is released one hour earlier than those of chachafruto, due to the fact that the whey proteins were partially hydrolyzed in the elaboration of the cheese. In addition, the results of the use of charcoal activated as Phe captor indicate the total reduction of the content of this amino acid in the hydrolysates and the reduction of the concentration of other amino acids. **ALAN, 2019; 69(1): 25-33.**

**Key words:** Phenylketonuria; phenylalanine; protein isolate; protein hydrolysates; *Erythrina edulis*; chachafruto.

### Introducción

Las proteínas de la dieta, son fuente de energía, aportan aminoácidos necesarios para el desarrollo y mantenimiento de células y tejidos de nuestro organismo. Como consecuencia de la digestión de las proteínas se liberan péptidos, que se definen como cadenas con distintos números de aminoácidos (1). Sin embargo, en algunas condiciones como en los errores innatos del metabolismo (EIM), la consecuencia de las deficiencias

<sup>1</sup>Universidad Simón Bolívar. Caracas-Venezuela. <sup>2</sup>Universidad Estatal Amazónica. Puyo, Pastaza. Ecuador. <sup>3</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Central de Venezuela. Caracas Venezuela. <sup>4</sup>Unidad de Errores Innatos del Metabolismo. Instituto de Estudios Avanzados IDEA. Caracas. Venezuela. <sup>5</sup>Universidad de Camagüey. Camagüey. Cuba.  
Autor para la correspondencia: Amaury Pérez Martínez.  
Email: amperez@uea.edu.ec

enzimáticas congénitas provoca un bloqueo en determinada vía metabólica, por tanto, el consumo de ciertos aminoácidos puede ocasionar consecuencias patológicas en el individuo.

La fenilcetonuria, o *PKU* (por su nombre en inglés: *phenylketonuria*) es el más frecuente de los errores innatos del metabolismo de los aminoácidos. Es una enfermedad metabólica autosómica recesiva, que se debe a una actividad deficiente o inexistente de la enzima fenilalanina hidroxilasa (*PAH* por su nombre en inglés: *phenylalanine hydroxylase*). Este déficit causa una acumulación de fenilalanina (*Phe*) y un descenso de tirosina (*Tyr*) en los fluidos y tejidos biológicos, por lo que la *PKU* que no es diagnosticada ni tratada tempranamente antes del mes de vida, produce una encefalopatía irreversible cuya consecuencia más grave es el retraso (2, 3).

Uno de los tratamientos de la *PKU* consiste en regular los niveles de *Phe*, limitando su ingestión. El propósito fundamental del tratamiento es reducir y mantener las concentraciones de *Phe* en sangre para prevenir la aparición de los efectos neuropatológicos y, al mismo tiempo, asegurar un crecimiento y un neurodesarrollo apropiado de los pacientes.

Las proteínas de origen animal deben restringirse en la dieta de los pacientes con *PKU* debido a que contienen 4 a 6% de *Phe*, y con pequeñas cantidades se cubre casi la totalidad diaria recomendada de este aminoácido. Los cereales, leguminosas, frutas y verduras también contienen este aminoácido, pero en cantidades menores, por lo que se pueden incluir en la dieta de forma cuidadosa y siempre calculando el aporte total de *Phe* (2).

Para limitar la ingesta de *Phe* y al mismo tiempo proporcionar una buena nutrición, el paciente debe recibir fórmulas especiales libres o bajas en *Phe*, ricas en otros aminoácidos, vitaminas y minerales. En estas fórmulas sin *Phe* las proteínas están predigeridas mediante hidrólisis enzimática, tratamiento térmico y ultrafiltración. El sustrato más usado para la preparación de estos hidrolizados proteicos son las proteínas de la leche, es decir, caseína y proteínas del lactosuero. Esto es debido fundamentalmente, a su disponibilidad en grandes cantidades, alto valor nutricional y moderado costo del mismo (4).

Sin embargo, el principal inconveniente de los consumidores afectados por *PKU* es el acceso a proteínas libres o bajas en el contenido de *Phe* para mantener la dieta baja en este

aminoácido, ya que, en su totalidad, estos productos son importados y de costos elevados.

En la búsqueda de fuentes proteicas alternativas se encuentran las proteínas de las leguminosas, que, a pesar de ser deficientes en metionina y cisteína, tienen una calidad nutricional adecuada por su alto contenido de lisina. Entre ellas se menciona el frijol de *E. edulis* Triana, que posee un alto contenido de proteínas (20,50%). Además de tener un aminograma comparable al del huevo y superior al del frijol y la arveja (5).

El chachafruto, es una leguminosa multipropósito con un amplio espectro de usos, que van desde la alimentación humana (la semilla) y animal (el forraje) hasta la recuperación de suelos degradados (dada su capacidad de fijar nitrógeno en el suelo), pasando por la formación de cercas vivas y las asociaciones con otras especies (en muchas regiones del país se le usa para dar sombra a los cafetales) (6).

Con el fin de aprovechar materia prima tropical no convencional subutilizada, el propósito del trabajo es obtener hidrolizados proteicos con bajo contenido de fenilalanina a partir del suero dulce de leche en polvo y harina de chachafruto.

## Materiales y métodos

La materia prima usada fue suero dulce de leche en polvo de la comercializadora LGA. C.A. Venezuela y *E. edulis* Triana que se produce y cultiva en el estado Mérida, Venezuela. Las enzimas utilizadas son de Sigma-Aldrich: a) pepsina de la mucosa gástrica porcina P7000-100G; b) proteasa bacteriana Tipo XIV de *Streptomyces griseus* P5147-1G.

Caracterización proximal del suero de leche. Se realizó según los métodos descritos en las normas COVENIN (7, 8): a) Humedad; b) proteínas; c) grasa d) cenizas; e) carbohidratos-cálculo por diferencia.

Preparación y caracterización proximal de la harina de chachafruto. Se elaboró la harina de chachafruto, según el método descrito por Pérez

Sira, Lares Amaiz (9). Se cortaron los frijoles en trozos rectangulares ( $\approx 2$  cm de diámetro), y deshidrataron a una temperatura de 45 °C por un periodo de 24 horas, en el deshidratador de bandeja “Mitchell Dryers” modelo N° 655149. Los trozos deshidratados fueron molidos en un molino (de martillo) y la harina obtenida fue envasada en frascos de vidrio.

La caracterización química de la harina de chachafruto se realizó de acuerdo a las normas COVENIN (7,10): a) humedad; b) proteínas; c) grasa; d) cenizas; e) carbohidratos-estimado por diferencia.

Obtención de aislados proteicos de harina de chachafruto por precipitación del punto isoelectrico. El aislado proteico se obtuvo por extracción alcalina y precipitación en el punto isoelectrico de la proteína, al modificar el método propuesto por (11).

La harina fue dispersada en agua destilada (1:10 p/v) y el pH ajustado a 11,0 con NaOH 0,1 M, a fin de facilitar la solubilización de la proteína. La dispersión se mantuvo bajo agitación durante 1 hora, al cabo de este tiempo se centrifugó la dispersión a 2.500 rpm durante 20 minutos. El sobrenadante fue separado y ajustado a pH 4 para precipitar la proteína, se agitó por una 1 hora y la proteína se recuperó por centrifugación a 2.500 rpm durante 30 minutos. Las proteínas recuperadas fueron liofilizadas y congeladas para su posterior hidrólisis.

Reducción del nivel de *Phe* de las proteínas del suero en polvo y del aislado proteico de harina de *Erythrina edulis* Triana. Para reducir el nivel de fenilalanina se utilizó y modificó la metodología propuesta por Arai, Maeda (12). Se prepararon soluciones acuosas al 5% de proteínas tanto del suero como del aislado de chachafruto y se calentaron a 90°C por 10 minutos, antes del tratamiento enzimático.

El proceso de hidrólisis se realizó en el fermentador *ApplikonBiotechnology* P100. Para esto la solución anteriormente calentada se enfrió a 37°C, ajustando el pH a 2.0 y añadiendo la pepsina en una proporción

1:100 (enzima:sustrato), manteniendo la temperatura del medio a 37°C por 2 h. Posteriormente se aumentó la temperatura a 40°C y el pH a 6,5 para añadir proteasa en una proporción 1:100 (enzima:sustrato), manteniendo el proceso de hidrólisis por 5 horas.

Finalizada la hidrólisis se inactivaron las enzimas aumentando la temperatura a 90°C. El hidrolizado enfriado se filtró a través de columnas de carbón activado para remover la fenilalanina. Es importante mencionar que durante el proceso de hidrólisis se tomaron muestras cada hora, con el fin de determinar la cantidad de fenilalanina liberada de las proteínas.

Cuantificación del contenido de *Phe* de los hidrolizados proteicos de suero y de chachafruto por fluorometría. El contenido de *Phe* se cuantificó utilizando el método Fluorometría desarrollado por Centro de Inmunoensayo (13). Este método consistente en impregnar papeles de filtro calibrado con los hidrolizados, que se secaron bajo campana. Una vez seco el papel de filtro de cada hidrolizado, se cortó un disco de 3 mm de diámetro y se depositó en una placa para su elusión, añadiendo 70  $\mu$ L de etanol al 70% y se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Luego se transfirió 10  $\mu$ L de los calibradores, el control y las muestras a las tiras de reacción, con una pipeta multicanal y se añade 10  $\mu$ L de la mezcla de reacción (mezcla de Ninidrina, L-Leucina-L-Alanina en una solución tampón de succinato) en cada orificio y se incubaron 1 hora a 62 °C en cámara húmeda.

Transcurrido este tiempo se añadió 10  $\mu$ L del reactivo de cobre en cada pocillo y se incubó 10 minutos a temperatura ambiente, la intensidad de la fluorescencia emitida en la placa se leyó en un fluorómetro PR-521 marca SUMA a una longitud de onda de 460 nm. Los valores de fluorescencia de las muestras se interpolaron en un gráfico de fluorescencia contra la concentración de *Phe* correspondiente a la curva de calibración, obteniéndose los resultados en  $\mu$ mol/L o mg/dL.

Obtención del perfil de aminoácidos del suero dulce de leche, aislado proteico de harina de chachafruto y sus respectivos hidrolizados. El perfil aminoacídico de los hidrolizados proteicos se realizó según el método descrito por Waters Associates (14), como se detalla a continuación:

La preparación de la muestra se realizó con 40 mg de proteína que fueron hidrolizadas a 110 °C durante 24 horas con 15 mL de HCl 6 M. Luego se aforó a 50 mL y una alícuota de 1 mL

fue filtrada a través de un filtro *Millipore*. Los hidrolizados fueron derivatizados usando fenilisotiocianato (*PITC* por su nombre en inglés: *phenylthiocarbonyl*).

Posteriormente se determinaron los perfil de aminoácidos en el HPLC de bomba binaria *Waters 1525*, acoplado a un detector de UV-Visible de onda dual *Waters 2487* empleando a una longitud de onda de 254 nm, con una columna de C18 de 150 x 3,9 mm (V0= 1,8 cm<sup>3</sup>). Se inyectaron las muestras usando una jeringa Hamilton de 50 µL, el loop de la válvula de inyección debe fue de 5 µL. Las fases móviles usadas fueron, A: constituida por un buffer de acetato a pH 5,70; B: constituida por una mezcla CH<sub>3</sub>CN – H<sub>2</sub>O (60-40) a un flujo de 1,0 mL/min. Cada corrida cromatográfica se llevó a cabo en un lapso de 45 minutos a una temperatura de 40 °C (14).

#### Análisis estadísticos.

Los resultados se presentan como el promedio de tres determinaciones ± desviación estándar. La comparación de los perfiles de aminoácidos del suero dulce de leche, aislado proteico de harina de chachafruto y con los respectivos hidrolizados fueron analizados con la prueba t de *Student* para determinar diferencias significativas en el contenido de aminoácidos.

### Resultados

*Composición del suero de leche en polvo.* En la Tabla 1, se presentan los resultados obtenidos de humedad, proteína cruda, grasa cruda y carbohidratos del suero dulce de leche en base seca y base húmeda, donde el mayor contenido corresponde a carbohidratos.

**Tabla 1.** Composición proximal del suero dulce de leche.

Contenido	Datos experimentales		Arcila y mendoza (2006)	
	Base húmeda (%)	Base seca (%)	Base húmeda (%)	Base seca (%)
Humedad	1,81 ± 0,11	0,00	3,15	0,00
Proteína cruda	15,40 ± 0,28	15,69	12,88	13,15
Grasa cruda	0,36 ± 0,02	0,37	0,5	0,51
Carbohidratos	76,43 ± 0,00	77,85	76,26	77,85
Cenizas	7,80 ± 0,01	7,94	7,21	7,36

*Preparación y caracterización de la harina de harina de chachafruto.* El rendimiento del proceso de obtención de la harina del chachafruto fue de 18,85%. Este valor es bajo y se debe al alto contenido de humedad en el grano fresco (81,5%).

En la Tabla 2 se reporta la cantidad porcentual de humedad, proteína cruda, grasa cruda, y carbohidratos de la harina de chachafruto, donde se observa un predominio de carbohidratos y proteínas.

*Obtención del aislado proteico de harina de chachafruto por precipitación del punto isoeléctrico.* La disponibilidad en grandes cantidades de fuentes proteicas vegetales, su menor costo comparado con la proteína de origen animal y la tendencia a reducir la ingesta de proteínas animales por razones de salud hace que en los últimos años se esté produciendo un gran desarrollo en los procesos de extracción y mejora de estas proteínas vegetales para su uso en alimentación humana. En la Tabla 3 se presenta el valor de la concentración del contenido de proteína aislada de la harina de chachafruto. Este valor es elevado al observar los datos en base seca y base húmeda.

*Reducción y cuantificación del nivel de Phe de las proteínas del suero y aislado de chachafruto tratadas enzimáticamente.* Para reducir el contenido de *Phe* de las muestras de suero y aislado proteico de harina de chachafruto se requiere hacer una ruptura de las proteínas mediante hidrólisis enzimática, para exponer los aminoácidos y facilitar su remoción. Considerando que la hidrólisis se realizó en dos etapas: a) 2 horas con pepsina de mucosa gástrica

**Tabla 2.** Composición proximal de la harina de chachafruto.

Contenido	Base húmeda (%)	Base seca (%)
Humedad	2,04 ± 0,22	0,00
Proteína cruda	25,66 ± 0,15	26,19
Grasa cruda	1,00 ± 0,02	1,02
Carbohidratos	68,76 ± 0,00	70,19
Cenizas	4,58 ± 0,21	4,68

**Tabla 3.** Contenido de humedad del aislado proteico de chachafruto.

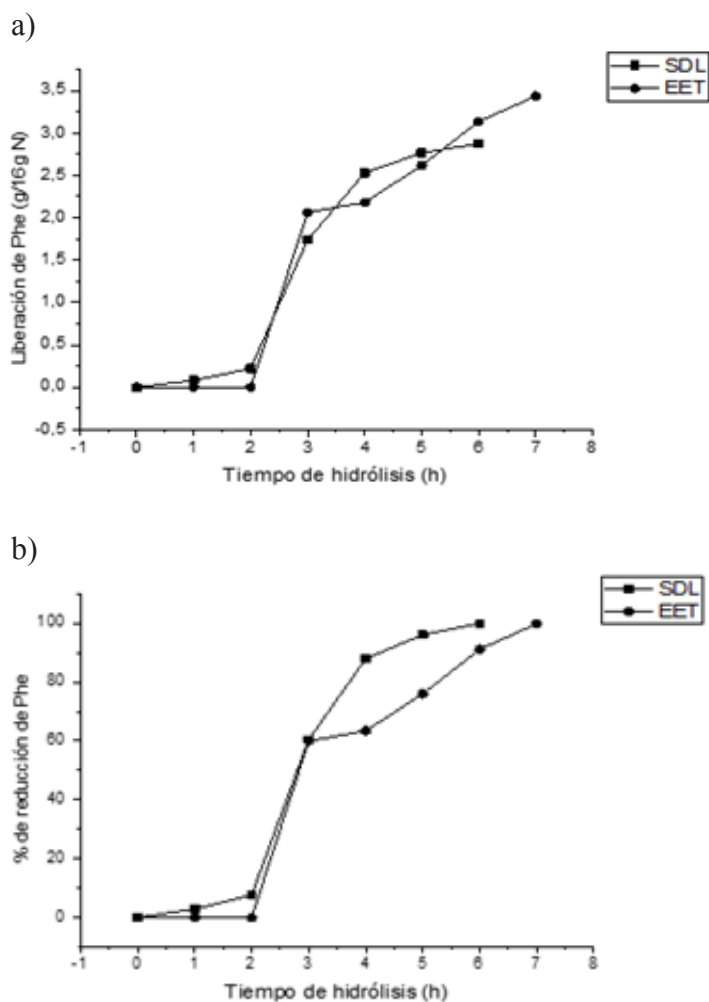
Contenido	Base húmeda (%)	Base seca (%)
Humedad	7,31 ± 0,29	0,00
Proteína cruda	88,99 ± 0,63	96,01

de porcino; b) 5 horas con proteasa bacteriana de *S. griseus*.

Los resultados se muestran en las Figura 1 (a) y (b). El tratamiento de 2 horas con la pepsina no tiene efecto relevante en la ruptura de las proteínas o generación de péptidos, ya que no se observa un incremento significativo en la cantidad de *Phe* detectada. Sin embargo, con la proteasa de *S. griseus* luego de 1 hora de tratamiento, se cuantificó más de 2 g de *Phe*/16 g de nitrógeno, respectivamente, debido a que esta no tiene punto específico de acción.

La liberación de la *Phe* ocurre más rápido en el suero de leche que en el aislado proteico de chachafruto, es así que en este último la separación total de la *Phe* ocurre una hora más tarde, asumiendo que esto puede ser debido a la matriz proteica de cada alimento. Es importante recalcar que el nivel de *Phe* de los hidrolizados filtrados a través de columnas de carbón activado no presenta cantidad detectable de *Phe* según los métodos de fluorometría y HPLC, por lo tanto, se supone la reducción del contenido del aminoácido a valores no identificables.

*Perfil de aminoácidos de suero de leche en polvo, aislado proteico de chachafruto y los respectivos hidrolizados.* En la Figura 2 se observa la diferencia entre el contenido de aminoácidos antes y después del tratamiento de hidrólisis para el suero dulce de leche, observándose que la *Phe* fue removida en su totalidad, mientras que la alanina un 85,88%, seguido de la isoleucina (65,40%), lisina (60,32%), prolina (59,07%), tirosina (54,69%), y en el resto de aminoácidos se perdió menos del 50%. Cabe mencionar que en



**Figura 1.** Cuantificación de la liberación (a) y la reducción (b) de la *Phe* en el suero dulce de leche (SDL) y harina de Chachafruto (EET) en las 7 h de hidrólisis enzimática.

la mayoría las concentraciones de los aminoácidos entre el suero dulce y su hidrolizado hay diferencias significativas.

En la Figura 3 se observa la diferencia entre el contenido de aminoácidos de la chachafruto antes y después del tratamiento de hidrólisis, observándose que la *Phe*, *lisina* y *leucina* fueron removidas hasta valores no detectables, mientras que la mayoría fue removida sobre el 50 % de la cantidad inicial. Además, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de aminoácidos antes y después del hidrolizado de las proteínas del chachafruto en lo que corresponde a histidina, arginina, metionina y cisteína.

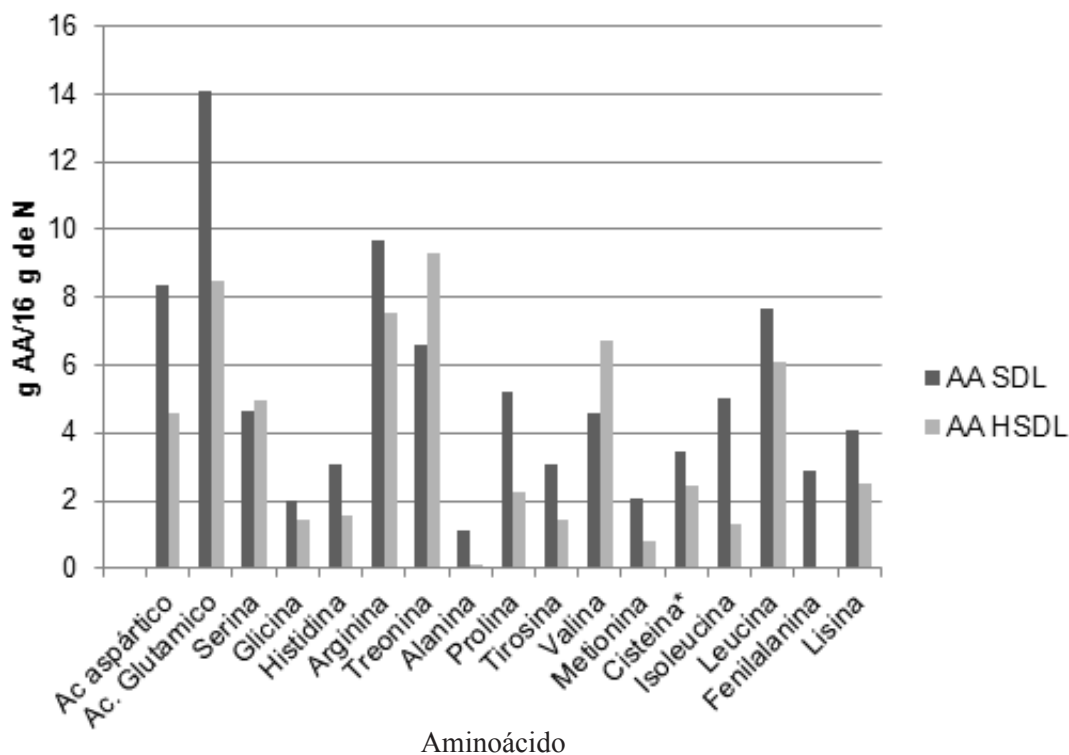


Figura 2. Perfil de aminoácidos (AA) del suero dulce de leche antes y después de la hidrólisis. AA SDL, Contenido de aminoácidos del suero antes de la hidrólisis; AA HSDL. Contenido de aminoácidos del suero después de la hidrólisis y con el tratamiento de carbón activado.

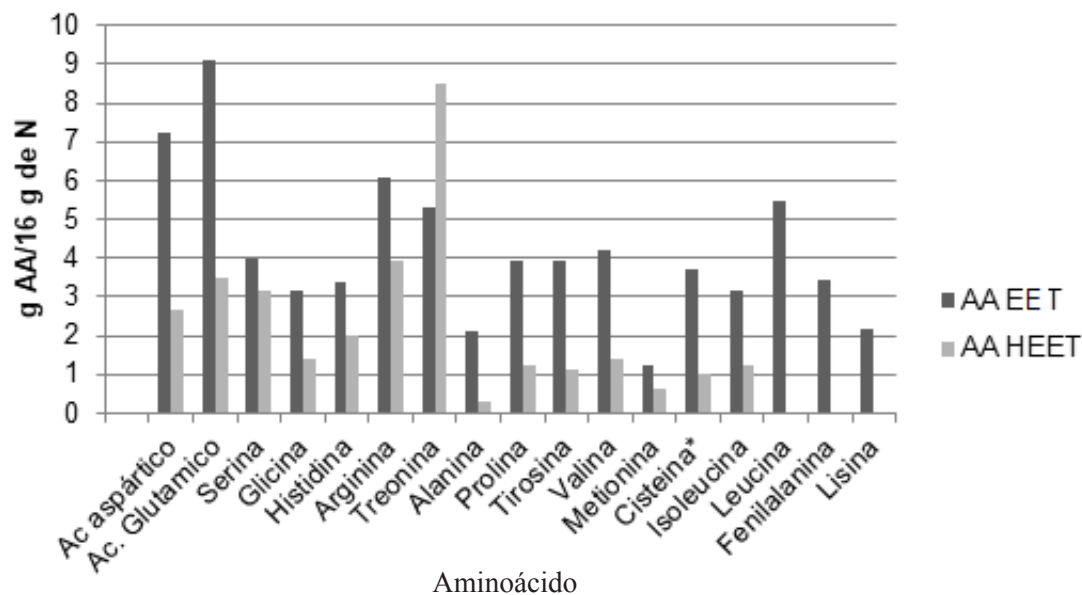


Figura 3. Perfil de aminoácidos de la harina de chachafruto antes y después de la hidrólisis. AA EET, Contenido de aminoácidos de chachafruto antes de la hidrólisis; AA HEET. Contenido de aminoácidos de chachafruto después de la hidrólisis y con el tratamiento de carbón activado

## Discusión

*Caracterización química del suero de leche en polvo.* En la Tabla 1, se presentaron los resultados obtenidos de la composición proximal del suero dulce de leche y los reportados por Arcila and Mendoza (15), de los cual, al comparar estos datos en base seca se observa que son similares. De acuerdo a lo establecido en la norma del CODEX(16) para suero en polvo (stand 289-1995), este debe tener un contenido de agua máximo de 5 % y de cenizas un 9,5%, mientras que a su vez establece que el contenido de proteína láctea debe ser como mínimo un 10%, cumpliendo el producto con lo establecido.

*Preparación y caracterización de la harina de harina de chachafruto.* En la Tabla 2 se reportó la composición proximal de la harina de chachafruto, donde se observa un contenido de 26,19% de proteína en base seca, valor que difiere del reportado por (17). Estos autores reportaron valores entre 18 a 21% de proteína. Mientras, que los valores de 20,5 % de proteína, 0,5% de grasa, 5,64% de cenizas y 73,33% de carbohidratos son reportados por (18). Estas diferencias, respecto a los valores obtenidos se pueden atribuir a muchos factores como son el método de extracción empleado, las condiciones ambientales-geográficas y agrarias del cultivo.

*Obtención del aislado proteico de harina de chachafruto por precipitación del punto isoeléctrico.* En la Tabla 3 se presentó el valor al que se llevó la proteína, contenido para que el producto sea considerado aislado proteico debe poseer más del 90% de proteínas(19). Estudios similares con pequeñas variaciones fueron realizados en la obtención de los concentrados. Esta extracción fue realizada a pH 12 de las proteínas solubles seguido de una precipitación ácida (pH 5) en el punto isoeléctrico, obteniéndose una concentración de proteína hasta un 86% (20).

*Reducción y cuantificación del nivel de Phe de las proteínas hidrolizadas del suero y aislado proteico de chachafruto* La Figura 1 (a) muestra la liberación de Phe y la Figura 1 (b) la cantidad de Phe removida

tanto del suero como del aislado proteico de chachafruto, además se observa que el tratamiento de 2 horas con la pepsina no tiene efecto relevante en la liberación de Phe. Sin embargo, éstas tiene efecto sobre la formación de péptidos ya que hidrolizan únicamente enlaces peptídicos y exhiben preferencia por los enlaces hidrofóbicos, específicamente son favorecidos los residuos aromáticos, así como aquellos residuos azufrados, y preferentemente escinde el C-terminal de fenilalanina, leucina y en menor medida ácido glutámico (21). La pepsina no escinde enlaces que involucran valina, alanina o glicina (22).

La proteasa utilizada proveniente del microorganismo *S. griseus* produjo una hidrólisis relativamente importante dentro del concentrado proteico, lo cual se observa por el aumento de Phe dentro de la muestra, al aumentar el tiempo de hidrólisis. Efecto similar fue observado en los trabajos de (12, 23, 24) al utilizar esta enzima en un producto alimenticio y en leche, respectivamente.

La liberación de la Phe ocurre más rápido en el suero de leche que en el aislado proteico de chachafruto, es así que en este último la separación total de la Phe ocurre una hora más tarde, asumiendo que esto puede ser debido a la matriz proteica de cada alimento. Es importante recalcar que el nivel de Phe de los hidrolizados filtrados a través de columnas de carbón activado no presenta cantidad detectable de Phe según los métodos de fluorometría y HPLC, por lo tanto, se supone la reducción significativa del contenido del aminoácido.

No se encontró reportes en la literatura respecto a la reducción de Phe de los hidrolizados de harina de chachafruto, pero sí de otros productos. Por ejemplo en hidrolizados de caseína se logró una disminución de Phe del 92% (24). Esta discrepancia puede estar relacionada con la mayor cantidad de carbón activado o número de filtraciones del mismo. En *Phaseolus vulgaris* se logró remover la Phe en un 94,49% (23) y en concentrado proteico de amaranto se determinó la eficiencia de la remoción de Phe, midiendo el contenido de Phe después del tratamiento con carbón activado de lo cual obtuvo un 98,78% para el tratamiento con proteasa *S. griseus* y 96,16% con *A. orizae*, ambas a 37 °C y durante 3 horas de reacción(4).

*Perfil de aminoácidos de suero de leche en polvo, aislado proteico de chachafruto y los respectivos hidrolizados.* En la

Figura 2 se observa el cambio en el contenido de aminoácidos del suero antes y después de la hidrólisis, además de indicar que la *Phe* fue removida hasta valores no detectables.

En este sentido, en los estudios realizados en la producción a escala piloto de sustancias péptidas con bajo contenido en *Phe* para pacientes con fenilcetonuria, lograron reducir el contenido de *Phe* de 40 a 0,4% una vez hidrolizando las proteínas del suero y con la utilización de carbón activado. El efecto de la utilización del carbón activado incide también sobre la concentración de los otros aminoácidos, por ejemplo: la tirosina y triptófano que se redujeron drásticamente; el ácido aspártico, treonina, prolina, valina, metionina, lisina, histidina y arginina se incrementaron levemente, mientras que la serina, ácido glutámico, glicina y alanina se vieron ligeramente disminuidos (12).

Otro estudio sobre la optimización de la extracción de hidrolizados de la proteína del arroz por medio de la acción de la enzima *corolase* PP y carbón activado, encontraron que el contenido final de fenilalanina en los hidrolizados osciló de 0,39 a 68,34 mg/100 g, correspondiendo a los niveles de remoción de 84 a 100% haciendo posible su uso en la preparación de las formulaciones para *PKU* (25). Otro resultado similar es el caso de la hidrólisis de suero donde obtuvieron una reducción significativa del contenido de fenilalanina (97,3%) y de la tirosina (63%) y se vieron afectados moderadamente la valina, lisina, glicina y leucina (26).

La Figura 3 muestra el cambio en el contenido de aminoácidos del chachafruto antes y después de la hidrólisis una vez removido la *Phe* con carbón activado. Un estudio de la determinación del perfil aminoacídico de péptidos de amaranto, luego del tratamiento con carbón activado indica la ausencia de aminoácidos como fenilalanina, tirosina, triptófano, metionina e isoleucina, mientras que prevalecen la histidina, arginina, cisteína, glicina (4). Es importante destacar que al comparar el perfil de aminoácidos del amaranto sin tratamiento y con tratamiento de carbón activado, determinaron una reducción sustancial en el contenido de aminoácidos aromáticos (4).

De acuerdo a los estudios mencionados anteriormente y en comparación con esta investigación, se define que la hidrólisis es un proceso que permite separar la *Phe* de las proteínas mediante el uso de enzimas, sin embargo, la acción de remoción mediante el uso de carbón activado no es

específico para la *Phe* ya que, en todos los estudios incluido este, la cantidad de los otros aminoácidos también se ve afectado tanto en los hidrolizados del suero como del aislado proteico de chachafruto.

Al comparar las concentraciones de los *Phe* del suero dulce de leche obtenidos por fluorometría y HPLC, se determinó que no existe diferencia significativa entre los métodos aplicados, sin embargo, por la rapidez y facilidad se recomienda el método de fluorometría, que presenta el inconveniente que solo esta estandarizado para *Phe*, y según (27) el método de fluorometría es más sensible que el de HPLC.

### Conclusiones

Se obtuvieron hidrolizados proteicos con bajo contenido de fenilalanina a partir del suero dulce de leche en polvo y harina de *E. edulis* Triana, mediante un proceso de hidrólisis enzimática y filtración con carbón activado para pacientes con fenilcetonuria.

Los valores obtenidos de la composición del suero de leche se encuentran dentro de los límites establecidos por la norma CODEX. Mientras que para la harina de *E. edulis* Triana se obtuvo la composición proximal. El rendimiento del proceso de obtención de la harina fue bajo debido a su alto contenido de humedad. Para ambos casos los valores de fenilalanina fueron reducidos a niveles no detectables tanto por fluorometría como por HPLC.

### Referencias

1. Baró L, Jiménez J, Martínez-Férez A, Bouza JJ. Péptidos y proteínas de la leche con propiedades funcionales. *Ars Pharmaceutica* 2017;42(3-4):135-45.
2. Guillén-López S, Vela-Amieva M. Actualidades en el tratamiento nutricional de la fenilcetonuria. *Act Pediatr México* 2011;32(2):107-14.
3. Mahfoud A, De Lucca M, Domínguez CL, Arias I, Casique L, Araujo K, *et al.* Hallazgos clínicos y espectro mutacional en pacientes venezolanos con diagnóstico tardío de fenilcetonuria. *Rev Neurología* 2008;47(1):5-10.

4. Pérez L. Elaboración de pastas con bajo contenido de fenilalanina, a base de harina de arroz (*Oriza sativa*) e hidrolizado proteico de amaranto *Amaranthus dubius* [Tesis doctoral]. Caracas, Venezuela: Universidad Central de Venezuela; 2011.
5. Arango Bedoya O, Bolaños Patiño V, Ricaurte García D, Caicedo M, Guerrero Y. Obtención de un extracto proteico a partir de harina de chachafruto (*Erythrina edulis*). Rev Universidad y Salud 2012;14(2):161-7.
6. Biocomercio Sostenible. Estudio de mercado a nivel nacional de productos derivados del *Erythrina edulis* Triana. Bogotá, Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt; 2003.
7. COVENIN. Productos de Cereales y leguminosas. Determinación de humedad (Norma COVENIN 1553-1980). Determinación de cenizas (Norma COVENIN 1783-1981). Determinación de grasa (Norma COVENIN 1785-1981), 1981.
8. COVENIN. Leche y sus derivados. Determinación de cenizas. 2da Revisión (Norma COVENIN 368-1997). Determinación de proteínas. 2da Revisión (Norma COVENIN 370-1997). Determinación de humedad. 2da Revisión (Norma COVENIN 1077-1997), 1997.
9. Pérez Sira EE, Lares Amaiz M, González Z, Tovar J. Production and characterization of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) flours using different thermal Treatments. Interciencia 2007;32(9):615-9.
10. COVENIN. Alimentos. Determinación de nitrógeno. Método de Kjeldahl. (Norma COVENIN 1195-1980), 1980.
11. Adebawale KO, Lawal OS. Foaming, gelation and electrophoretic characteristics of mucuna bean (*Mucuna pruriens*) protein concentrates. Food Chemistry. 2003;83(2):237-46.
12. Arai S, Maeda A, Matsumura M, Hirao N, Watanabe M. Enlarged-scale production of a low-phenylalanine peptide substance as a foodstuff for patients with phenylketonuria. Agric Biol Chem 1986;50(11):2929-31.
13. Centro de Inmunoensayo. UMTEST PKU – Prueba fluorescente para la cuantificación de *Phe* en sangre seca sobre papel de filtro. La Habana, Cuba: Centro de inmunoensayo; 2008. p. 12.
14. Waters Associates. Product Bulletin No. L21 (Part No. 82523. 1984.
15. Arcila N, Mendoza Y. Elaboración de una bebida instantánea a base de semillas de amaranto *Amaranthus cruentus* y su uso potencial en la alimentación humana. Rev Fac Agronomía (LUZ) 2006;23(1):110-9.
16. Norma del Codex para sueros en polvo, CODEX STAN 289-1995, (1995).
17. Pérez G, Martínez C, Díaz E. Evaluation of the protein quality of *Erythrina edulis* (balúu). Arch Latinoamer Nutr 1979;29(2):193-207.
18. Barrera N, Mejía M. Chachafruto, balú, sachaporoto; *Erythrina edulis*, Triana. Pasado, presente y futuro. Colombia: Universidad Nacional de Colombia; 1997.
19. CODEX. Norma del Codex para productos proteínicos de soja, (CODEX STAN 175-1989), 1989.
20. Gonçalves N, Vioque J, Clemente A, Sánchez-Vioque R, Bautista J, Millán F. Obtención y caracterización de aislados proteicos de colza. Grasas y Aceites. 1997;48:282-9.
21. Knowles JR, Sharp H, Greenwell P. The pH-dependence of the binding of competitive inhibitors to pepsin. Biochem J 1969;113(2):343-51.
22. Rajagopalan TG, Moore S, Stein WH. Pepsin from pepsinogen preparation and properties. J Biol Chem 1966;241(21):4940-50.
23. Rengel A. Elaboración de un alimento a base de harina de arroz (*Oryza sativa*), plátano (*Musa aab*) y frijol (*Phaseolus vulgaris*) con bajo contenido de fenilalanina para consumo infantil [Tesis doctoral]. Caracas, Venezuela: Universidad Central de Venezuela; 2010.
24. Soares RDL, Biasutti EAR, Capobianco M, Vieira CR, Silva VDM, Morais HA, et al. Preparation of enzymatic skim milk hydrolysates with low phenylalanine content. Acta farm bonaer 2007;25(3):325-332.
25. Bizzotto CS, Capobianco M, Biasutti EAR, Silva VDM, Junqueira RG, Silvestre MPC. Rice protein hydrolysates with low phenylalanine content, prepared by the action of corolase PP and the use of activated carbon. Ciênc Agrotec 2006;30(2):308-16.
26. Cueto D. Formulación de mezclas para torta y panqueca a base de harina yuca enriquecida para dietas con regímenes especiales [Tesis doctoral]. Caracas, Venezuela: Universidad Central de Venezuela; 2010.
27. Pérez E, Pérez L, Requena L, Manhfoúd A, Domínguez CL, Rengel A, et al. Preparation of low-phenylalanine macro peptides and estimation of its phenylalanine content by fluorometric technique. J Nutr Ther 2013;2(3):137-44.

Recibido: 29/11/2018  
Aceptado: 27/03/2019

## Efecto del consumo de alimentos con elevado contenido lipídico sobre el perfil lipídico de ratones sanos

Miguel A. Campuzano-Bublitz,<sup>1</sup> Elena M. Araujo,<sup>1</sup> Rebeca P. Peralta,<sup>1</sup> Rodrigo Burgos,<sup>1</sup> Carmen M. Coronel,<sup>1</sup> María L. Kennedy.<sup>1</sup>

### Resumen: Efecto del consumo de alimentos con elevado contenido lipídico sobre el perfil lipídico de ratones sanos.

La alteración de los lípidos en sangre o dislipidemias sobre todo el colesterol y triglicéridos, son un factor de riesgo de aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares. En este trabajo se analizó el efecto del consumo de huevo, clara, yema de huevo, mantequilla y maní sobre el perfil lipídico de ratones sanos. Se utilizaron seis grupos de ratones hembras sanas, el grupo control (GC) recibió balanceado comercial, mientras que en los demás grupos, 15% de su alimentación diaria consistió en huevo entero (GHE), yema (GY), clara de huevo (GCH), manteca o mantequilla (GMT) o maní (GMN), durante 28 días. Al final de este periodo, se obtuvo la muestra de suero para la determinación de los niveles de colesterol total (CT), triglicéridos (TG), colesterol HDL, colesterol LDL y colesterol VLDL, y se calcularon los índices de riesgo aterogénico y de riesgo cardíaco. Se observó un aumento estadísticamente significativo en los niveles de CT y LDL en relación al GC en los grupos GHE ( $p < 0,0001$ ), GY ( $p < 0,0001$ ), GCH ( $p < 0,005$ ) y GMT ( $p < 0,001$ ), mientras que en niveles de TG presentan un aumento los grupos GHE ( $p < 0,0001$ ) y GY ( $p < 0,0001$ ). El nivel de HDL aumentó significativamente en los grupos GHE ( $p < 0,005$ ) y GMT ( $p < 0,001$ ), y en cuanto al índice de riesgo cardíaco y aterogénico el grupo GY fue el único que reveló aumento significativo ( $p < 0,0001$ ). En el grupo que recibió maní (GMN), no se alteraron los niveles de lípidos, y por lo tanto tampoco el riesgo cardíaco ni aterogénico, lo que se traduce en un menor riesgo de enfermedades cardiovasculares de este grupo. *ALAN, 2019; 69(1): 34-41.*

**Palabras clave:** Maní, huevo entero, yema, clara de huevo, manteca, mantequilla, dislipidemia.

### Summary: Effect of the consumption of foods with high lipid content on lipid profile of healthy mice.

The alteration of blood lipids or dyslipidemias, especially cholesterol and triglycerides, are a risk factor for atherosclerosis and cardiovascular diseases. In this work, the effect of consumption of egg, egg white, egg yolk, butter and peanut on the lipid profile of healthy mice was analyzed. Six groups of healthy female mice were used, the control group (GC) received commercial pellets, while for the other groups, 15% of their daily food consisted of whole egg (GHE), egg yolk (GY), egg white (GCH), butter (GMT) or peanut (GMN), for 28 days. At the end of this period, a serum sample was obtained for the determination of the levels of total cholesterol (CT), triglycerides (TG), HDL cholesterol, LDL cholesterol and VLDL cholesterol, and cardiac and atherogenic risk index were calculated. A statistically significant increase in TC and LDL levels was observed in relation to GC in the GHE ( $p < 0,0001$ ), GY ( $p < 0,0001$ ), GCH ( $p < 0,005$ ) and GMT ( $p < 0,001$ ) groups; whereas TG levels showed an increase in the GHE ( $p < 0,0001$ ) and GY ( $p < 0,0001$ ) groups. The HDL level increased significantly in the groups GHE ( $p < 0,005$ ) and GMT ( $p < 0,001$ ), and in terms of the cardiac and atherogenic risk index, the GY group was the only group that revealed a significant increase ( $p < 0,0001$ ). In the group that received peanuts (GMN), the lipid levels were not altered, and therefore neither the cardiac nor the atherogenic risk, which indicates the risk of cardiovascular diseases in this group, were affected. *ALAN, 2019; 69(1): 34-41.*

**Key words:** Peanut, egg, yolk, egg white, butter, lipid profile, dyslipidemia.

### Introducción

Las dislipidemias consisten en alteraciones en las diversas familias de lipoproteínas plasmáticas, y esto corresponde a un perfil de lípidos sanguíneos que aumenta el riesgo de desarrollar aterosclerosis. Estas alteraciones habitualmente cursan con aumento de la lipoproteína de baja densidad (LDL) y descenso de la lipoproteína de alta densidad (HDL), siendo ambas

<sup>1</sup>Departamento de Farmacología. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción, Campus UNA, 2169. San Lorenzo, Paraguay.

Autor para la correspondencia: María L. Kennedy, Email: lukenrol@qui.una.py

determinaciones, como así también el colesterol total y los triglicéridos, importantes parámetros bioquímicos en relación con las enfermedades cardiovasculares (1,2). Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de muerte en todo el mundo, calculándose que en 2012 murieron por esta causa 17,5 millones de personas, lo cual representa un 31% de todas las muertes registradas en el mundo. Según un reporte del Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social (MSPyBS) del 2012, al año se registran, en Paraguay, un promedio de 18.000 muertes, de las cuales 6.000 fueron por enfermedades cardiovasculares, lo que representa un 30% (3, 4).

Respecto a la relación entre las dislipidemias y la dieta, se ha visto que tradicionalmente los frutos secos han sido percibidos por el público en general como indeseables debido a su alto contenido de grasa, sin embargo, los frutos secos contienen en gran medida grasas monoinsaturadas; no obstante, los estudios epidemiológicos han demostrado el efecto favorable de este tipo de grasa sobre los lípidos sanguíneos. En efecto, se ha demostrado que el consumo frecuente de frutos secos, incluyendo el maní, puede reducir el riesgo de enfermedad coronaria (5, 6).

Por otro lado, los aceites vegetales difieren en su composición de ácidos grasos que los constituyen; estas diferencias generan distintos efectos sobre el perfil lipídico que se hacen más evidentes en las concentraciones de colesterol HDL. Una dieta que incluye aceite de palma, a pesar de ser rico en ácidos grasos saturados, mostró valores reducidos de colesterol total, colesterol LDL y triglicéridos, y aumenta las concentraciones de colesterol HDL, cuando se comparó con otras dietas ricas en otros ácidos grasos como láurico y mirístico; además, los ácidos grasos poliinsaturados contenidos en los aceites vegetales, inhiben la síntesis e incrementan el catabolismo del colesterol VLDL, disminuyen la síntesis de ApoB-100 y colesterol LDL (7).

Otro alimento que genera controversia a la hora de hablar de dislipidemias es el huevo, cuya ingesta, especialmente su yema, ha sido implicada en la hiperlipidemia por su alto contenido de colesterol,

principal razón de la permanente reducción del consumo per cápita mundial de huevos. Sin embargo, muchos artículos sobre el efecto del consumo de huevo entero sobre el perfil lipídico han sido publicados, con resultados contradictorios ya que algunos hablan de un efecto beneficioso sobre la hiperlipemia (8, 9). También se relacionan con el aumento del colesterol plasmático las carnes, leche, mantequilla, vísceras y los alimentos fritos, los que favorecen el depósito de éste en las paredes de las arterias, engrosándolas y disminuyendo su elasticidad (10, 11). En este estudio se plantea evaluar el efecto del consumo de huevo entero, yema de huevo, clara de huevo, mantequilla y maní sobre el perfil lipídico de ratones sanos.

## **Materiales y Métodos**

### *Reactivos y materiales*

El huevo, la mantequilla y el maní o cacahuete (*Arachis hypogaea*, Fabaceae) fueron adquiridos localmente, siempre empleándose la misma marca y tipo. Para la determinación de colesterol total, triglicérido y colesterol HDL se utilizó el kit de reactivos de Human Diagnostics Worldwide. Pentobarbital sódico (Nembutal Abbott, Japón).

### *Grupos Experimentales*

La muestra estuvo conformada por ratones albinos hembras, sanos, de 25 a 35 g. Los animales fueron criados en el Bioterio del Departamento de Farmacología de la Facultad de Ciencias Químicas UNA, donde se mantuvieron con un ciclo de 12 h luz y 12 h oscuridad, climatizados a 23-25°C, con humedad relativa del 50-60%, alimentados con una dieta estándar consistente en balanceado comercial (expeler de soja, alfalfa, avena, maíz, sorgo, afrecho de trigo, cloruro de sodio, vitaminas A, D, E, B2, B12, ácido pantoténico, colina, biotina, minerales: Ca, Fe, Cu, Mn, Zn, K, Na) y agua *ad libitum*. Los ratones albinos suizos hembras, se dividieron en 6 grupos, teniendo en cuenta los diferentes alimentos que fueron suministrados adicionados a la dieta (huevo entero, yema de huevo, clara de huevo, mantequilla y maní) y un grupo control alimentado con balanceado comercial, cada grupo estuvo integrado por 8 animales, distribuidos de forma aleatoria. El peso de los animales se registró todos los días durante dicho período, antes de la intervención diaria, los alimentos y el

agua fueron suministrados una vez al día, temprano en la mañana. Los grupos experimentales recibieron una dieta diaria de 85% de balanceado comercial (5,1 g) y 15% (0,9 g) del suplemento administrado. Así, el grupo GHE recibió 0,9 gramos de huevo entero batido hasta obtener una mezcla homogénea, el grupo GY recibió 15% de yema de huevo, grupo GCH recibió clara de huevo parcialmente batida, grupo GMT recibió mantequilla derretida previamente a baño maría, todos estos alimentos fueron mezclados con el balanceado comercial hasta que quedaron impregnados por el mismo. El grupo GMN recibió 5,1 g de dieta estándar y 0,9 g de grano entero de maní y el grupo GC recibió 6 gramos de balanceado comercial, siendo este el grupo control. La composición nutricional de cada grupo se resume en la tabla 1 (estimados a partir de las tablas de composición de Alimentos de Centroamérica, Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamericana de la Salud, INCAP. 2012). El preparado de los alimentos se realizó cada dos días, y fueron conservados en un refrigerador, en frascos individuales e identificados claramente. La medición de lípidos en sangre se efectuó al final del periodo de 28 días.

#### *Toma de muestra y determinación de lípidos*

La toma de muestra se realizó al final del tratamiento con ayuno previo de 12 horas; una vez anestesiados los animales, con pentobarbital sódico 50 mg/kg administrado por vía intraperitoneal, se procedió a extraer la sangre total, por medio de punción intracardiaca. Las muestras de sangre se centrifugaron a 3000 revoluciones por minuto durante 10 minutos, para la obtención del suero, y la determinación del perfil lipídico. y junto con los reactivos, se realizó el análisis de acuerdo con las indicaciones del fabricante Human Diagnostec Worldwide, y se midió la absorbancia con un espectrofotómetro. La determinación de lípidos se realizó en suero y se determinó la concentración de colesterol total, colesterol HDL, triglicéridos, y se calculó el colesterol LDL, el colesterol VLDL por la fórmula de Friedewald (12).  $VLDL = TG/5$ ;  $LDL = CT - VLDL - HDL$ . Luego se procedió al cálculo de los índices de riesgo coronario y aterogénico. El índice de riesgo aterogénico (AI) se calculó mediante:  $LDL/HDL$  y el índice de riesgo coronario (IRC) se calculó mediante:  $CT/HDL$ .

**Tabla 1.** Aporte nutricional correspondiente a 0,9 g de la dieta complementaria

	Huevo entero	Clara	Yema	Mantequilla	Maní
Calorías (kcal)	1,3	0,465	2,898	6,907	5,427
Hidratos de Carbono (g)	0,025	0,010	0,032	0	0,162
Proteínas (g)	0,101	0,100	0,142	0	0,243
Grasa Total (g)	0,088	0,002	0,238	0,765	0,423
Colesterol (mg)	3,564	-	11,106	2,115	-

El valor nutricional fue estimado a partir de las tablas de composición de Alimentos de Centroamérica, Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamericana de la Salud. 2012 (INCAP).

#### *Análisis de datos*

Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  desviación estándar (SD), y se compararon mediante el Test de comparación Múltiple de Dunnett, luego de ANOVA de una vía, usando el software GraphPad Prism 7. Las diferencias se consideraron significativas cuando  $p < 0,05$ , en todos los casos.

#### *Aspectos éticos*

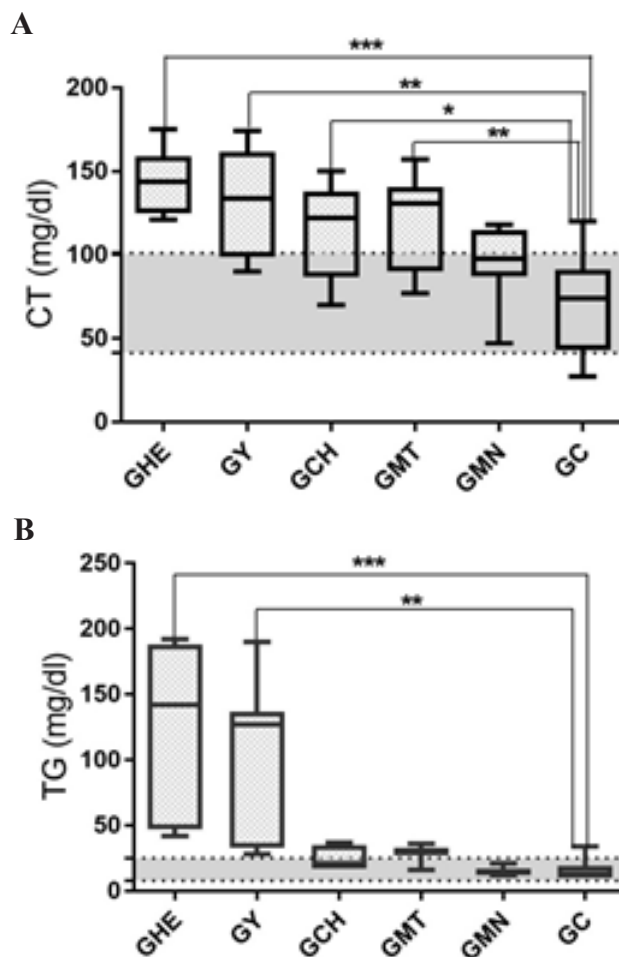
Los animales se consideraron como reactivos biológicos, fueron conservados en condiciones adecuadas según las recomendaciones internacionales y se trabajó de acuerdo a las normas establecidas en la comisión de ética de la comunidad Europea. El manejo de los animales se realizó por procedimientos estandarizados y la regla básica que siguió fue; todo animal tratado debe ser sacrificado y se utilizó para los ensayos el número mínimo necesario, evitando así el uso

indiscriminado. El protocolo fue aprobado por el comité de ética de investigación de la Facultad De Ciencias Químicas UNA (CEI 235/16). El mínimo número de animales y duración de la observación requerida para obtener datos consistentes fue empleado, cada animal fue empleado una vez (13).

### Resultados

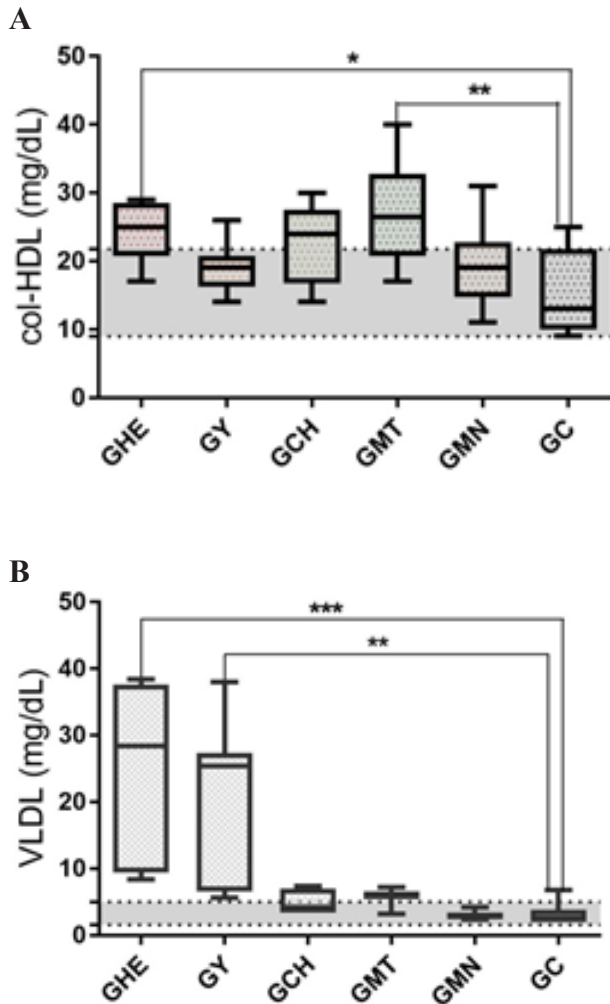
Este estudio fue realizado a fin de evaluar el efecto del consumo de huevo entero, yema de huevo, clara de huevo, mantequilla y maní sobre el perfil lipídico de ratones hembras. El perfil lipídico de los animales fue determinado después de 28 días de tratamiento con la dieta, luego de obtener la muestra biológica por punción cardiaca en los animales anestesiados. En cuanto al nivel de colesterol, los grupos que recibieron un suplemento con huevo entero (GHE), yema de huevo (GY), clara de huevo (GCH) y mantequilla (GMT); mostraron un incremento significativo del nivel de colesterol total, en relación al grupo control (GC), que recibió balanceado comercial (CT: GHE  $143,3 \pm 19,34$ ,  $p < 0,0001$ ; GY  $131,6 \pm 32,23$ ,  $p < 0,0001$ ; GCH  $115,8 \pm 28,37$ ,  $p < 0,005$ ; GMT  $119,4 \pm 29,40$ ,  $p < 0,001$ ; GC  $71,13 \pm 29,93$ ; mg/dl). Por otro lado, al comparar el nivel de CT entre el grupo maní (GMN) con el GC no se observó entre ellos una diferencia estadísticamente significativa (figura 1 A).

En los grupos GHE y GY también se observó un incremento estadísticamente significativo ( $p < 0,0001$ ) en la concentración de triglicéridos en suero (TG: GHE  $127,3 \pm 64,98$ ; GY  $99 \pm 62,54$ ; GC  $16,43 \pm 8,58$ ). Sin embargo, no existe diferencia significativa en las concentraciones de TG en los grupos GCH ( $24,86 \pm 8,49$ ), GMT ( $28,71 \pm 6,55$ ), y GMN ( $15,14 \pm 2,91$ ) con respecto al GC (figura 1 B). En los grupos que recibieron como alimento huevo entero y mantequilla, se observó un incremento significativo en el nivel de HDL en relación al grupo control (GHE;  $24,38 \pm 4,27$ ,  $p < 0,005$ ; GMT:  $27,27 \pm 7,44$ ,  $p < 0,001$ ; GC:  $15,38 \pm 6,39$ ). En los grupos GY, GCH y GMN no



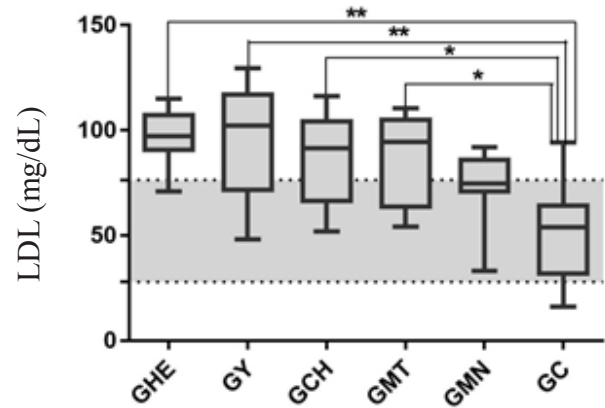
**Figura 1.** Nivel de colesterol total (CT) y triglicéridos (TG) al final de 28 días de tratamiento en los grupos huevo entero (GHE), yema de huevo (GY), clara de huevo (GCH); mantequilla (GMT), maní (GMN) y grupo control (GC). Cada barra representa el promedio  $\pm$  SD (ANOVA 1 vía, post test de comparación múltiple de Dunnett). \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,0001$ ; significativamente diferente de GC.

se encontraron diferencias estadísticamente significativas (GY:  $19,00 \pm 3,62$ , GCH:  $22,88 \pm 5,74$  y GMN:  $19,50 \pm 6,18$ , figura 2 A). Así también, se encontró que los niveles de VLDL estaban aumentados en los grupos alimentados con huevo entero y yema de huevo (GHE:  $25,46 \pm 13,00$ ,  $p < 0,0001$ ; GY:  $19,80 \pm 12,51$ ,  $p < 0,001$ ; GC:  $3,29 \pm 1,72$ ). Por otro lado, GCH ( $4,97 \pm 1,69$ ), GMT ( $5,74 \pm 1,31$ ) y GMN ( $3,03 \pm 0,58$ ) no presentaron diferencias significativas en comparación a niveles de VLDL del GC (figura 2 B).



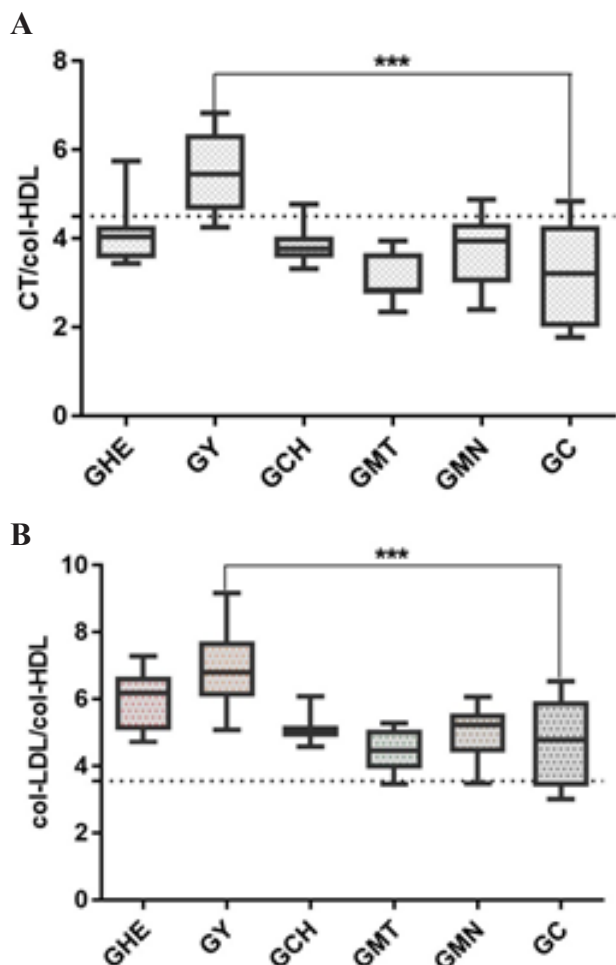
**Figura 2.** Nivel de colesterol HDL y VLDL (mg/dl) al final de los 28 días del tratamiento, en los grupos huevo entero (GHE), yema de huevo (GY), clara de huevo (GCH); mantequilla (GMT), maní (GMN) y grupo control (GC). Cada barra representa el promedio  $\pm$  SD (ANOVA 1 vía, post test de comparación múltiple de Dunnett). \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,0001$ ; significativamente diferente de GC.

En los grupos de experimentación alimentados con huevo entero, yema, clara de huevo y mantequilla, se pudo determinar un aumento significativo en los niveles séricos de LDL en relación al grupo control (GHE:  $96,60 \pm 13,64$ ,  $p < 0,001$ ; GY:  $94,63 \pm 28,23$ ,  $p < 0,001$ ; GCH:  $87,70 \pm 22,52$ ,  $p < 0,005$ ; GMT:  $86,60 \pm 22,45$ ,  $p < 0,005$ ; GC:  $52,18 \pm 24,30$ ). El grupo que recibió maní arrojó valores similares ( $72,90 \pm 18,18$ ) al grupo control (figura 3).



**Figura 3.** Nivel de colesterol HDL y VLDL (mg/dl) al final de los 28 días del tratamiento, en los grupos huevo entero (GHE), yema de huevo (GY), clara de huevo (GCH); mantequilla (GMT), maní (GMN) y grupo control (GC). Cada barra representa el promedio  $\pm$  SD (ANOVA 1 vía, post test de comparación múltiple de Dunnett). \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,0001$ ; significativamente diferente de GC.

Adicionalmente se calculó el índice de riesgo aterogénico en los diferentes grupos de animales, y se observó que el grupo que fue suplementado con yema de huevo incrementó el riesgo aterogénico en un 69,15% (IA:  $5,44 \pm 0,91$ ,  $p < 0,0001$ ) en relación al grupo control ( $3,21 \pm 1,18$ ). Los otros grupos mantuvieron valores cercanos a los del grupo control (GHE:  $4,16 \pm 0,76$ , GCH:  $3,86 \pm 0,46$ , GMT:  $3,14 \pm 0,61$ , GMN:  $3,76 \pm 0,84$ , figura 4 A). Así también, se procedió al cálculo del índice de riesgo coronario y se determinó un incremento de riesgo en el grupo alimentado con yema de huevo, siendo 47,65% más elevado que el grupo control (IRC:  $6,94 \pm 1,25$ ,  $p < 0,0001$ ). Los otros grupos mantuvieron valores similares al grupo control (GHE:  $5,97 \pm 0,32$ ; GCH:  $5,08 \pm 0,44$ ; GMT:  $4,44 \pm 0,68$ ; GMN:  $5,01 \pm 0,82$ ; GC:  $4,70 \pm 1,30$ ; figura 4 B).



**Figura 4.** Índice de riesgo aterogénico (A) e índice de riesgo coronario (B) calculado luego de 28 días del tratamiento en los grupos huevo entero (GHE), yema de huevo (GY), clara de huevo (GCH); mantequilla (GMT), maní (GMN) y grupo control (GC). Cada barra representa el promedio  $\pm$  SD (ANOVA 1 vía, post test de comparación múltiple de Dunnett's). \*\*\*  $p < 0,001$ ; significativamente diferente de GHE.

### Discusión

Múltiples estudios indican la relación entre el riesgo de enfermedad cardiovascular y los patrones alimentarios. Ciertos alimentos, las frutas, verduras, cereales integrales, el aceite de oliva, el pescado y los frutos secos, se han considerado saludables

para el corazón, entre otros factores, por su alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados (14, 15). Los alimentos con alto contenido en ácidos grasos saturados, encontrados principalmente en alimentos de origen animal, y en algunos alimentos de origen vegetal, como los aceites de coco y palma entre otros, se han relacionado con disfunción endotelial y mayor riesgo de enfermedad cardiovascular (14, 15). Los ácidos grasos saturados aumentan el cociente col-LDL/col-HDL y por ello se restringen al mínimo en dietas para prevenir esta patología. Los ácidos grasos mono y poliinsaturados tienen efectos preventivos y se recomienda sustituir las grasas saturadas y colesterol dietético por estos ácidos grasos insaturados, para optimizar la salud cardiovascular (16).

Si bien es aceptado que el consumo de alimentos ricos en grasas saturadas y colesterol, como carnes, yema de huevo y derivados ricos en grasas como la mantequilla, se asocia a un aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular, ésta hipótesis no ha sido probada suficientemente, ya que se ha encontrado que el consumo de la huevos no se relaciona con la alteración al perfil lipídico, la adiposidad, la resistencia a la insulina, la presión arterial, ni la puntuación integrada de riesgo de enfermedad cardiovascular (17). Los frutos secos han demostrado su capacidad de disminuir el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, efecto que estaría relacionado a su contenido de grasa insaturada, así también por representar una fuente importante de vitamina B, vitamina E, arginina, fibra dietética, y numerosas sustancias bioactivas; flavonoides, y esteroles vegetales (5), y se ha reportado que tienen un efecto favorable en el perfil lipídico, disminuyendo CT y col-LDL en plasma. En este sentido, las investigaciones que relacionan enfermedades cardiovasculares y consumo específico de maní son escasas (17).

Los resultados de este estudio, mostraron que la concentración de colesterol se incrementó en los ratones que recibieron huevo, yema, clara de huevo y mantequilla. Se ha publicado previamente estudios en ratas wistar alimentadas con yema de huevo y que aumentaron también los niveles de colesterol, al igual que col-LDL y triglicérido (18). El incremento en el grupo que recibió clara de huevo es menos pronunciado y considerando que la composición nutricional de la clara de huevo está conformada de manera mayoritaria por proteínas y la totalidad de colesterol dietético está presente en la yema, este aumento podría deberse a que ante una ingesta pobre de colesterol dietético, el hígado de los ratones lo produce en exceso, aumentando así el colesterol plasmático (8, 9). Las

concentraciones de triglicéridos y de VLDL se encontraron significativamente elevadas en los grupos que fueron alimentados con huevo y yema, estos datos están de acuerdo con los reportados, pero realizados en rata (9, 19, 20).

En los grupos que recibieron clara de huevo y mantequilla no se alteró el nivel de triglicérido, la literatura científica reporta que ratones alimentados con margarina tienen un aumento mayor de triglicéridos comparado con otro que recibió mantequilla (21). En un estudio clínico se estudió el efecto del consumo de tres huevos de gallina diarios en pacientes dislipidémicos, y se encontró que no hubo cambios significativos en el CT, TG, VLDL e índice de riesgo aterogénico, aunque aumentó de manera significativa el col-LDL (22). En este estudio, excepto aquellos que recibieron maní, los ratones tuvieron concentraciones elevadas de triglicérido y col-LDL. El aumento de TG se asocia con la síntesis de partículas de col-LDL pequeñas y densas, concentraciones altas de TG suelen tener concentraciones elevadas de apo B, lo que da a estas partículas más tiempo para depositar lípidos en la pared arterial, traducándose a una asociación mayor para riesgo de aterosclerosis (23). Se ha demostrado que la elevación del col-LDL es una de las principales causas de cardiopatía coronaria, y ensayos clínicos recientes han demostrado que los tratamientos que reducen su concentración también reducen el riesgo de cardiopatía (23).

El perfil lipídico de los animales que recibieron como suplementado el maní no sufrió modificaciones comparado al grupo control, y además puede verse un incremento no significativo en el nivel de col-HDL. Se ha reportado previamente que el maní induce un incremento en el col-HDL y también menor índice aterogénico (5) y que no altera las concentraciones séricas de CT, TG, y col-LDL. En un estudio clínico, se reportó que la ingesta de maní redujo de manera significativa la concentración de TG (24). Por lo tanto, se podría decir que el consumo regular de maní podría ayudar a regular el perfil lipídico, asociados con un menor riesgo de enfermedades cardiovasculares. Finalmente, en este modelo con ratones, los índices aterogénico y de riesgo cardiaco, se incrementaron significativamente en el grupo que se alimentó con yema de huevo, aun cuando en otros grupos también se tuvieron elevadas las concentraciones de colesterol total y LDL.

Excepcionalmente el grupo alimentado con cacahuate o maní, los demás alimentos que recibieron como suplemento los animales de experimentación, alteraron los niveles de lípidos,

pero el índice de riesgo aterogénico y cardiaco solamente se vio incrementado en el grupo que recibió yema de huevo.

## Referencias

1. Torresani ME, Somoza MI. Lineamientos para el cuidado nutricional. 3ª ed. Buenos Aires: Eudeba; 2011.
2. Raymond J, Couch S. Tratamiento nutricional médico en las enfermedades cardiovasculares. En: Mahan L, Escott S, Raymond J, editores. Krause Dietoterapia. 13ª ed. Barcelona: Elsevier; 2013.
3. Organización Mundial de la Salud. Enfermedades cardiovasculares. Ginebra. OMS; 2015.
4. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Prevalencia de Enfermedades Cardiovasculares en Paraguay. Asunción. MSPBS; 2012.
5. Guasch-Ferré, M., Liu, X., Malik, V. S., Sun, Q., Willett, W. C., Manson, J. E., Rexrode KM, Li Y, Hu F, Bhupathiraju, S. N. Nut Consumption and Risk of Cardiovascular Disease. *J Am Coll Cardiol* 2017; 70(20): 2519–2532.
6. Emekli E, Kasikci E, Yarat A. Peanuts improve blood glutathione, HDL-cholesterol level and change tissue factor activity in rats fed a high-cholesterol diet. *Eur J Nutr* 2007; 46: 476-482.
7. Fattore E, Bosetti C, Brighenti F, Agostoni C, Fattore G. Palm oil and blood lipid-related markers of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis of dietary intervention trials. *Am J Clin Nutr* 2014; 99: 1331-1350.
8. Omole J, Ighodaro O. Comparative studies of the effects of egg yolk, oats, apple and wheat bran on serum lipid profile of wistar rats. *ISRN Nutrition* 2013:1-4.
9. Hodzic A, Hamamdžić M, Gagić A, Crnkic C, Kadric M, Pasić E. *et al.* Lipid composition of liver in rats fed diets supplemented with egg yolks of modified composition. *Acta Vet-Beograd* 2012; 62: 455-466.
10. Socarrás M, Bolet M. Alimentación saludable y nutrición en las enfermedades cardiovasculares. *Rev Cubana Invest Bioméd* 2010; 29: 353-363.
11. Nettleton JA, Brouwer IA, Geleijnse JM, Hornstra G. Saturated Fat Consumption and Risk of Coronary Heart Disease and Ischemic Stroke: A Science Update. *Ann Nutr Metab* 2017; 70: 26–33.
12. Friedewald W, Levy R, Frederickson D. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.

13. Real Decreto 17344, 1201/2005 de 10 de octubre sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros factores científicos, Ministerio de la Presidencia. España. BOE 252. P.34367-69.
14. Peñalvo J, Oliva B, Sotos M, Uzhova I, Moreno B, León M, Ordovás JM. La mayor adherencia a un patrón de dieta mediterránea se asocia a una mejora del perfil lipídico plasmático: la cohorte del Aragon Health Workers Study. *Rev Esp Cardiol* 2015; 68: 290–297
15. Berciano S, Ordovás J. Nutrición y salud cardiovascular. *Rev Esp Cardiol* 2014; 67: 738–747.
16. Sánchez A, Ortega M. Metabolismo de las lipoproteínas. En: Gil A, editor. *Tratado de Nutrición. Bases Fisiológicas y bioquímicas de la nutrición*. 2ª ed. Argentina: Panamericana; 2010.
17. Zhong VW, Van Horn L, Cornelis MC, Wilkins JT, Ning H, Carnethon MR, Greenland P, Mentz RJ, Tucker KL, Zhao L, Norwood AF, Lloyd-Jones DM, Allen NB. Associations of dietary cholesterol or egg consumption with incident cardiovascular disease and mortality. *JAMA* 2019; 321: 1081-1095.
18. Omole J, Ighodaro O. Comparative Studies of the Effects of Egg Yolk, Oats, Apple, and Wheat Bran on Serum Lipid Profile of wistar rats. *ISRN Nutrition* 2013; 1-4.
19. Barbosa M, Cota C, Pinheiro A, Mandarim C. Lipid Metabolism in Rats Fed Diets Containing Different Types of Lipids. *Arq Bras Cardiol* 2002; 78: 32-38.
20. Kuang H, Yang F, Zhang Y, Wang T, Chen G. The Impact of Egg Nutrient Composition and Its Consumption on Cholesterol Homeostasis. *Cholesterol* 2018. 1-22
21. Ferreira M, Queiroz J, Costa N, Pinto S. Serum lipids and hepatic morphology of rats fed different lipid sources (soybean oil, fish fat and lard, margarine and butter). *Rev Nutr Campinas* 2011; 24: 143-152.
22. Nasiff A, Herrera A, Argüelles D, Martínez J, Soto J, Tomargo T, Tamargo T, Pérez A. Efecto del consumo de tres huevos de gallina diarios sobre el perfil lipídico en pacientes dislipidémicos. *Clin Invest Arterioscl* 2011; 23:1-7.
23. Detección, valoración y tratamiento de la hipercolesterolemia en adultos. *Rev Panam Salud Pública* 2001; 9: 338-344.
24. Alper C, Mattes R. Peanut consumption improves indices of cardiovascular disease risk in healthy adults. *J Am Coll Nutr* 2003; 22: 133-141.

Recibido: 18/03/2019

Aceptado: 09/07/2019

## Detección de gluten en alimentos etiquetados como libres de gluten disponibles en el mercado costarricense.

Jessie Usaga,<sup>1</sup> Jacqueline Aiello.<sup>1,2</sup>

**Resumen: Detección de gluten en alimentos etiquetados como libres de gluten disponibles en el mercado costarricense.** La presencia de gluten en alimentos etiquetados como libres de gluten (LG) representa una preocupación para la salud de pacientes celíacos, y personas intolerantes y sensibles a este conjunto de proteínas. Sin embargo, esto no ha sido estudiado aún en países centroamericanos. Por tanto, se investigó la presencia de gluten en alimentos etiquetados LG, manufacturados en Costa Rica y disponibles en el mercado entre los años 2016 y 2017 para determinar así el cumplimiento de las regulaciones nacionales e internacionales. Se ha estipulado que dichos alimentos deben contener <20 ppm de gluten. Un total de 173 productos fueron analizados por inmunoensayo (tres muestras por producto; cada una de un lote diferente) utilizando el kit ELISA RIDASCREEN®. 60 marcas de productos, de 32 compañías diferentes, fueron evaluadas identificando 15 categorías de alimentos LG: productos horneados, premezclas y harinas, snacks, granos y cereales, salsas, productos cárnicos, productos de origen marino, bebidas, productos lácteos, pastas, chocolates, aceites, tortillas y arepas, jaleas y mermeladas y otros. Una muestra de uno de los productos analizados presentó >20 ppm de gluten. No obstante, al menos una muestra de 49 productos diferentes (28% de los productos analizados) presentó una concentración cuantificable de gluten (>5 ppm) evidenciando una alta variabilidad en los resultados. Esta investigación evidencia el fuerte compromiso de la industria alimentaria costarricense para cumplir la norma que regula la producción de alimentos LG durante el período de estudio, aunque se alerta acerca de la necesidad de implementar mejoras en los sistemas de producción y vigilancia de estos alimentos. *ALAN*, 2019; 69(1): 42-49.

**Palabras clave:** Libre de gluten, diagnóstico, Costa Rica, encuesta de mercado.

**Summary: Gluten detection in foods labeled as gluten-free available in the Costa Rican market.** The presence of gluten in gluten free (GF) labelled foods represents a serious health concern to celiac patients and persons intolerant or sensitive to this set of proteins. However, this has not yet been studied in Central American countries. Therefore, the presence of gluten in foods labeled LG, manufactured in Costa Rica and available in the market, between 2016 and 2017, was investigated to determine compliance with national and international regulations. It has been stipulated that such foods must contain <20 ppm of gluten. A total of 173 products were analyzed by immunoassay (three samples per product; each from an independent batch), using the ELISA RIDASCREEN® kit. 60 product brands, from 32 different companies, were evaluated and 15 GF food categories were identified: baked products, baking mixes and flours, snacks, grains and cereals, sauces, meat products, seafood, beverages, dairy products, pasta, chocolates, oils, tortillas and arepas, jams and jellies, and others. Only one sample from one of the tested products presented >20 ppm of gluten. However, at least one sample of 49 different products (28% of products tested) presented a quantifiable concentration of gluten (>5 ppm), showing a high variability of results. This research evidences the strong commitment of the Costa Rican food industry to comply with the norm that regulates the production of LG foods during the study period, even though it warns about the need to implement improvements in the production and surveillance systems of these foods. *ALAN*, 2019; 69(1): 42-49.

**Key words:** Gluten-free, diagnostic, Costa Rica, market survey.

### Introducción

El consumo de alimentos libres de gluten (LG) es cada vez más popular en el mundo, no siendo Latinoamérica y Costa Rica una excepción. Este incremento responde parcialmente a la concientización de pacientes diagnosticados con la enfermedad celíaca, sensibilidad o intolerancia al gluten, condiciones que requieren que el paciente siga una dieta

---

<sup>1</sup>Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA), Universidad de Costa Rica (UCR), Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, código postal 11501-2060, San José, Costa Rica. <sup>2</sup>Escuela de Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica (UCR), Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, código postal 11501-2060, San José, Costa Rica.  
Autor para la correspondencia: Jessie Usaga. Email: jessie.usaga@ucr.ac.cr

estricta libre de este conjunto de proteínas. Sumado a lo anterior, los consumidores han percibido otros beneficios asociados a las dietas libres de gluten tales como una mejor salud digestiva y pérdida de peso; contribuyendo esto significativamente al desarrollo, comercialización y aumento de ventas de más productos innovadores libres de gluten (1).

Una de cada cien personas en el mundo padece la enfermedad celíaca (2). Esta enfermedad es considerada como un problema de salud pública dado que representa uno de los desórdenes genéticos más comunes (1). La celiaquía es una enfermedad autoinmune en la que interviene una reacción mediada por la inmunoglobulina E (IgE). El padecimiento se caracteriza por causar inflamación a nivel de la mucosa del intestino delgado (1) (3), limitando la absorción de nutrientes tales como minerales, ácido fólico y vitaminas liposolubles. Los síntomas de la enfermedad varían entre pacientes dependiendo de la sensibilidad del individuo y de la severidad de la enfermedad y el único tratamiento efectivo disponible consiste en seguir una dieta estricta de alimentos libres de gluten (3) (4). El gluten corresponde a proteínas presentes de manera natural en el trigo, centeno, cebada y variedades híbridas de estos cereales.

Dado que el único tratamiento disponible a la fecha para controlar la enfermedad celíaca corresponde a la exclusión absoluta del gluten en la dieta (5), la información proporcionada en las etiquetas de los productos alimenticios comerciales es fundamental para el manejo adecuado de dicho padecimiento. La información provista en dichas etiquetas debe ser fidedigna y confiable pero además regulada y monitoreada. Esfuerzos internacionales para definir los límites de detección de alérgenos u otros compuestos potencialmente nocivos para los consumidores y los niveles causantes de reacciones adversas son de gran relevancia para que la industria alimentaria pueda implementar procedimientos efectivos de control de estos peligros, mecanismos de prevención del contacto cruzado en las zonas de proceso y un etiquetado adecuado de los productos que lo ameriten (6).

En países desarrollados como Estados Unidos y Canadá, se han realizado diagnósticos para determinar el contenido de gluten en alimentos etiquetados LG.

Sharma *et al.* (1) reportaron por ejemplo que de 275 alimentos etiquetados libres de gluten y disponibles en los Estados Unidos, 1,1 % incumplía con el límite de la concentración de gluten en el producto final establecido por la Agencia de Control de Alimentos y Medicamentos de ese país (FDA, por sus siglas en inglés), el cual corresponde a 20 ppm. Este límite máximo es también el indicado por *Codex Alimentarius* y la Unión Europea. En el estudio de Sharma *et al.* (1), el incumplimiento en el etiquetado mostró además una alta correlación con la presencia de avena como uno de los ingredientes sustitutos de trigo más comunes en los productos analizados. De la misma forma, Gelinás *et al.* (7) evaluaron el grado de contaminación con gluten en productos canadienses elaborados a base de cereales y encontraron que en alrededor de 140 muestras de alimentos etiquetados LG, 23 (15%) contenían más de 20 ppm de gluten. Finalmente, en el estudio realizado por Lerner *et al.* (4) en restaurantes de los Estados Unidos, se encontró que 32% de los alimentos etiquetados como LG contenían gluten; significando que un tercio de los alimentos en restaurantes de ese país, sujetos al estudio y etiquetados como libres de gluten, contenían al menos 20 ppm de gluten.

En Costa Rica, la Ley General de Salud (Ley No. 5395) enfatiza que queda estrictamente prohibido importar, elaborar, usar, poseer para vender, comercializar, traspasar a título gratuito, manipular, distribuir y almacenar, alimentos alterados o deteriorados, contaminados, adulterados o falsificados. A la fecha, el Reglamento Técnico para alimentos para regímenes especiales destinados a personas intolerantes al gluten (RTCA 475:2011) (8) establece las especificaciones y requisitos de etiquetado que deben cumplir estos productos e incluye el límite máximo de aceptación de 20 ppm de gluten para poder indicar que un alimento se encuentra libre de gluten. Asimismo se detallan las condiciones de etiquetado, análisis y muestreo requeridos para estos productos. No obstante, no se cuenta aún con especificaciones claras relacionadas a las instalaciones autorizadas para procesar específicamente alimentos libres de gluten, así como controles de proveedores de materias primas y otros requisitos imprescindibles para el procesamiento de estos alimentos. Este faltante de requerimientos podría ser una puerta que permita que alimentos etiquetados LG, pero contaminados con este conjunto de proteínas, lleguen a los anaqueles de supermercados y estén disponibles para pacientes celíacos o que sufren algún efecto adverso en su salud tras la ingesta de gluten.

Considerando que la presencia no intencionada de gluten en alimentos etiquetados LG representa un riesgo severo para la salud de los pacientes celíacos, sensibles o intolerantes al gluten, y que en Costa Rica la legislación actual asociada a la producción

y comercialización de alimentos libres de gluten es limitada, se considera de alta relevancia la presente investigación, la cual contempla como objetivo general el realizar un diagnóstico de los alimentos, de producción costarricense, etiquetados como LG que se encuentran disponibles en los principales supermercados en Costa Rica entre los años 2016 y 2017. Los hallazgos de esta investigación podrían utilizarse como línea base para establecer políticas nacionales y regionales que permitan proteger la salud de los pacientes celíacos, sensibles o intolerantes al gluten, además de ofrecer transparencia al consumidor en lo que respecta al etiquetado de este tipo de alimentos. Este diagnóstico representa además un caso de estudio a nivel país que podría eventualmente replicarse en otros países de América Latina que enfrenten un escenario similar. Cabe destacar que se decidió utilizar un método ELISA para la cuantificación del contenido de gluten en las muestras dado que investigaciones previas mostraron un nivel aceptable de recuperación de gluten utilizando el método seleccionado (9) (10), sumado a que el método aplicado ha sido el recomendado por el *Codex Alimentarius* (11) y reportado como método oficial de la AOAC.

## **Materiales y Métodos**

### *Muestras de alimentos*

Se analizaron tres muestras (correspondiente cada una a un lote independiente) de 173 productos etiquetados LG e inscritos ante el Ministerio de Salud del Gobierno de Costa Rica (condición comprobada con el reporte de un registro sanitario en la etiqueta de cada alimento). Las muestras analizadas corresponden a la totalidad de los productos, de origen nacional y etiquetados LG, disponibles en el mercado costarricense entre los años 2016 y 2017. Como referencia, para diciembre del año 2015 en Costa Rica existían un total de 117 productos etiquetados LG registrados ante el Ministerio de Salud (12). Posterior a la localización de estos productos, se continuó el muestreo incluyendo productos emergentes, también etiquetados LG, que se localizaron en el mercado durante el período de estudio; de ahí que el número total de alimentos analizados supera la línea base de productos registrados. Para la selección de los productos se visitaron los principales supermercados del país (al menos en dos ubicaciones distintas) y en tres ocasiones diferentes durante el período de estudio. Esto para identificar nuevos productos en el mercado y lotes distintos de producción para cada alimento. Cabe destacar que durante la selección de los productos, se identificaron algunos de producción artesanal (de la categoría de panificación, principalmente) etiquetados como LG. Sin embargo, dada la ausencia de un registro sanitario, estos

productos no fueron incluidos en la investigación.

El análisis incluyó un total de 60 marcas distintas manufacturadas por 32 empresas costarricenses. Un 48% de las muestras fueron donadas por los productores y el 52% restante fueron adquiridas directamente en los supermercados. Para el momento del estudio, solamente una de las empresas participantes (en la categoría de pastas) contaba con una certificación de tercera parte para la producción de alimentos libres de gluten. Las muestras líquidas homogéneas y sólidos en polvo fueron pesadas y extraídas sin ninguna preparación preliminar. Para todos los demás alimentos, una cantidad adecuada de producto se procesó hasta obtener una mezcla homogénea. Específicamente, se homogenizaron 0,25 g de muestra para productos molidos, blandos o líquidos, 50 g para productos cárnicos y 200 g para muestras que contenían avena. Las muestras de alimentos (antes de preparar) se almacenaron a 4 °C o -18 °C, según correspondiera, hasta que fueron sometidas al análisis. Se consideró como límite máximo aceptable una concentración de 20 ppm de gluten. Cada muestra (de cada lote) fue analizada por duplicado.

### *Determinación de gluten por el método ELISA*

Para la detección y cuantificación de gluten en los productos muestreados, se utilizó el kit de ensayo inmunológico adsorbente “sándwich-enzima” (ELISA) RIDASCREEN® utilizando el anticuerpo monoclonal R5 (R7001; R-Biopharm AG, Darmstadt, Alemania) y se siguió el método oficial de análisis número 2012.01 de la AOAC. Se interpretaron los resultados utilizando el software RIDASOFT® Win.NET. Se obtuvo la curva de mejor ajuste según lo indicado por el fabricante del kit. Los factores de dilución fueron tomados en consideración para convertir los valores de gliadina a gluten. Para cada muestra los resultados se reportaron como el promedio de dos mediciones.

Para el análisis se contó con un control negativo y un control positivo. Posterior a la homogenización de las muestras, se realizó la extracción y cuantificación siguiendo las indicaciones provistas en el kit.

## Resultados

Los productos analizados se agruparon en 15 categorías (Tabla 1). En dicha tabla se resume además la lista general de productos incluidos en

cada categoría y el porcentaje de productos analizados para cada una de las categorías seleccionadas según su contenido de gluten. Cabe destacar que para posicionar un alimento en las categorías de no detectable o no cuantificable, las tres muestras analizadas cumplieron con el rango establecido

**Tabla 1.** Categorías de alimentos, muestras seleccionadas y porcentaje de productos según su contenido de gluten (n = 173).

Categoría	Muestras seleccionadas	Número de productos	Número de empresas	Porcentaje de productos con los siguientes contenidos de gluten (%)			
				No detectable < 3 ppm y no cuantificable (de 3 a 5 ppm)	5 a 15 ppm	15 a 20 ppm	> 20 ppm
Pastas	Pasta de arroz con salsa de queso, pasta de arroz espagueti, pasta de arroz macaronni, pasta de arroz caracolitos, pasta de arroz tigiliatelle/fettucini, pasta de arroz tornillitos	6	1	100	0	0	0
Chocolates	Chocolates rellenos y fruta cubierta con chocolate	5	2	100	0	0	0
Tortillas y arepas	Tortillas y arepas de maíz	3	3	100	0	0	0
Aceites	Aceite de linaza y aceite de chía	2	1	100	0	0	0
Productos lácteos	Queso fresco, queso semiduro, dulce de leche, queso mozzarella, leche evaporada, leche en polvo y crema dulce	9	4	100	0	0	0
Jaleas y mermeladas	Jaleas y mermeladas de frutas varias	4	1	100	0	0	0
Mariscos y pescados	Productos enlatados incluyendo atún en agua, atún en aceite, atún con vegetales y atún con especias	11	1	91	9	0	0
Productos cárnicos	<i>Dips</i> cárnicos, jamón, salchicha, salame, chorizo, mortadela, paté, salchichón, pechuga de pavo, <i>roast beef</i> y lechón de cerdo	23	7	87	13	0	0
Otros	Empanizadores, sazoadores, hemp, alpiste molido y gelatina	11	3	73	27	0	0
Salsas	Salsas barbacoa, salsas picantes, salsa china y salsa inglesa	18	3	72	28	0	0
Premezclas y harinas	Premezcla para panqueques, premezcla para queques (tortas, pasteles), premezcla multigrano, premezcla para galletas, premezcla para pizza, premezcla para repostería salada y <i>bisquits</i> , premezcla para panes, premezcla para <i>brownies</i> , premezcla para preparar productos de maíz, harina de yuca, harina de garbanzo, harina de maíz y harina de arroz	24	5	67	33	0	0
Bebidas	Café, infusiones y té y bebidas a base de chía y frutas	10	4	50	50	0	0
Productos horneados	Galletas, queques (tortas, pasteles), pan de queso y almojábana	11	5	46	18	36	
Snacks	Productos fritos de maíz, tubérculos y vegetales fritos (ejemplo: yuca y plátano), bizcochos, maní y turrone	21	8	43	52	0	5
Granos y cereales	Chía, arroz precocido, amaranto, cereales de desayuno, moringa, avena, linaza y quinoa	15	4	40	60	0	0

(<3 ppm o entre 3 y 5 ppm, respectivamente). En el caso de las muestras para las cuales sí se obtuvo un contenido de gluten cuantificable, el producto se ubicó en la categoría que contempla la mayor cantidad de gluten que fue detectada en la muestra. En la Tabla 2 se muestra el máximo contenido de gluten

obtenido por muestra de producto con concentración cuantificable. En algunos casos solamente se detectó dicho contenido en una de las tres muestras analizadas y cabe la posibilidad de que los dos lotes restantes mostraran una cantidad de gluten no cuantificable o

**Tabla 2.** Productos con concentraciones detectables de gluten y su contenido.

Producto	Código de empresa*	Número de muestras con gluten (máximo n=3)	Máxima concentración de gluten obtenida (promedio ± desviación estándar) (ppm)
Maní con chocolate	F	1	51 ± 6
Galletas de chocolate	E	2	19 ± 3
Queque (tortas, pasteles) de fondant	E	2	19 ± 3
Queque (tortas, pasteles) de vainilla	E	2	18 ± 3
Queque (tortas, pasteles) de vainilla con moka	E	3	16 ± 3
Turrón de girasol	G	2	13 ± 2
Salsa para <i>bifalo wings</i>	O	1	12,0 ± 0,4
Yuca frita sabor ranchero	F	1	11 ± 3
Té de manzanilla	L	2	11 ± 1
Bizcocho de maíz	M	2	10 ± 1
Premezcla para panqueques	A	1	9 ± 2
Bebida de chía y mora	A	1	9 ± 1
Bebida de chía y cas	A	1	8 ± 1
Bebida de chía y maracuyá	A	1	8 ± 1
Yuca frita con crema y cebolla	F	1	8 ± 2
<i>Snack</i> de maíz frito con sabor barbacoa	F	1	8 ± 2
Sazonador de res	A	1	8 ± 2
Quinoa blanca	A	2	7,3 ± 0,9
Galletas saladas de maíz	C	1	7 ± 2
Bebida de chía y mango	A	1	7 ± 1
Paté	P	1	7 ± 1
Harina de arroz	A	1	7 ± 1
Harina de yuca	A	1	6,7 ± 0,9
Premezcla para panadería y repostería	A	1	6,6 ± 0,9
Empanizador de pollo	A	1	6,6 ± 0,9
Quinoa primavera	A	1	6,5 ± 0,9
<i>Snack</i> de maíz frito con sabor a limón y sal	F	1	6 ± 2
Premezcla para pan de molde	A	1	6,2 ± 0,9
Premezcla multigrano para horneado	A	1	5,9 ± 0,8
Chía molida	A	1	5,9 ± 0,8
Quinoa con curry y coco	A	1	5,9 ± 0,8
Salsa picante dulce asiática	I	1	5,9 ± 0,8
Harina de maíz	J	1	5,8 ± 0,8
Bizcochos de maíz	G	3	5,7 ± 0,8
Turrón de amaranto	G	2	5,6 ± 0,7
Salchicha ahumada	P	1	5,6 ± 0,8
Rosquillas de maíz	M	1	5,5 ± 0,7
Alpiste molido	A	1	5,4 ± 0,8
Maní garapiñado	F	1	5,4 ± 0,8
Jamón cocido	P	1	5,4 ± 0,8
Quinoa roja	A	1	5,3 ± 0,8
Suspiros de guayaba	H	1	5,3 ± 0,8
Salsa picante con mango y coco	I	1	5,3 ± 0,7
Galletas de avena piña y canela	D	2	5,2 ± 0,7
Salsa sazonzadora para carne	I	1	5,2 ± 0,7
Salsa dulce picante	I	1	5,2 ± 0,7
Atún enlatado con chile jalapeño	N	1	5,1 ± 0,7
Arroz integral	K	1	5 ± 1
Harina de arroz	B	1	5 ± 1

\*La identidad de las empresas es protegida utilizando un sistema de codificación.

inclusive no detectable. No obstante, dada la severidad de un resultado cuantificable por encima del valor recomendado, el alimento fue categorizado dentro del grupo que representa el peor de los escenarios desde la perspectiva de un consumidor sensible al gluten.

### **Discusión**

Para el año 2015, en Costa Rica existían en el mercado un total de 117 productos etiquetados libres de gluten registrados ante el Ministerio de Salud (12), esto incluyendo productos nacionales e importados. Algunas de las categorías para ese momento no contaban con ningún producto etiquetado LG, como por ejemplo productos lácteos, aceites y chocolates. No obstante, para el año de cierre del estudio (2017), se evidenció el crecimiento vertiginoso en el número de productos de producción nacional (173 en total) etiquetados LG, situación alineada con las tendencias a nivel mundial de aumento en el consumo y comercialización de productos LG (13). Tal como lo describen Jnawali *et al* (14), el desarrollo de productos etiquetados libres de gluten debe tener presente un número importante de consideraciones dado que estos productos podrían ser adquiridos por pacientes celíacos. Dentro de esas consideraciones se incluye la exclusión de materias primas que potencialmente pueden contener gluten, la selección de fuentes alternativas de harina, la formulación para la obtención de productos de textura y color aceptable, el mejoramiento de la calidad nutricional e inocuidad, así como el etiquetado del alimento y la valoración del costo del producto terminado.

Tal como se mencionó previamente, una de las empresas participantes en el estudio contaba con certificación privada para la producción de productos LG, no siendo esta condición una limitante para que un número importante de otras empresas del país centroamericano lanzaran al mercado numerosos productos alimentarios etiquetados como LG (Tabla 1). Para beneficio del consumidor, este estudio mostró que la falta de una certificación no se vinculó directamente con la producción de alimentos con un contenido de gluten superior al mínimo aceptable, lo cual

es un indicador del compromiso de los industriales, para el momento del muestreo, con la producción de estos alimentos. No obstante, esta realidad pone en evidencia la importancia de implementar a nivel país un sistema de vigilancia más riguroso, amparado en regulaciones, que proteja al consumidor sensible al gluten.

La Tabla 1 muestra además que las tres categorías con mayor cantidad de productos etiquetados LG corresponden a premezclas y harinas, productos cárnicos y *snacks*. En concordancia con un estudio previo realizados en los Estados Unidos, la categoría de *snacks* se posiciona dentro de las más numerosas para productos libres de gluten (1). Por su parte, en los resultados obtenidos sobresale como únicamente una de las muestras analizadas, maní con chocolate (Tabla 2), perteneciente a la categoría de *snacks*, la cual presentó un contenido de gluten superior a 20 ppm incumpliendo, por ende, con las regulaciones nacionales e internacionales. Cabe destacar que este resultado se obtuvo en una de las tres muestras analizadas, pese a que de la empresa involucrada se analizaron un total de 11 productos diferentes por triplicado (33 muestras en total). Resultados aislados como este, podrían sugerir el posible descontrol a nivel de proveedores de materias primas que podrían ocasionar la eventual obtención de productos terminados con cantidades inaceptables de gluten, lo cual representa un riesgo para los consumidores que deben garantizar una dieta estricta libre de este conjunto de proteínas. Por su parte, al analizar las muestras que presentaron resultados cuantificables de gluten (Tabla 2), se distingue como en 2 de las 3 muestras analizadas de 3 productos distintos producidos por la misma empresa, específicamente (galletas de chocolate, queque (torta/pastel) de fondant y queque (torta/pastel) de vainilla, al considerar la desviación estándar obtenida, el límite superior cuantificado excede las 20 ppm permitidas. Resultados como este ponen en evidencia que algunas de las empresas que etiquetan productos como LG en Costa Rica deben implementar controles más rigurosos para garantizar la ausencia del gluten en sus formulaciones.

Dentro de los resultados obtenidos destaca que en la única empresa certificada para la producción de alimentos libres de gluten, se detectó un contenido de gluten entre 5 y 15 ppm en únicamente una de las tres muestras evaluadas de un alimento, contando esta empresa con un total de 15 productos diferentes sujetos al estudio (solamente 1 de 45 muestras analizadas presentó el contenido de gluten mayor a 5 ppm). Si bien es cierto el 100% de los productos de esta empresa

cumplieron con lo requerido según *Codex Alimentarius* (<20ppm), esta condición no resultó exclusiva a la certificación y podría sugerir la oportunidad de que más empresas opten por un sistema de certificación de tercera parte que respalde la producción de los productos LG. Empresas participantes, como por ejemplo las productoras de jaleas y mermeladas, productos lácteos, aceites, chocolates y tortillas y arepas presentan un 100% de muestras con concentraciones no detectables o no cuantificables de gluten y en consecuencia podrían ser candidatas a una certificación en este campo. Cabe destacar que algunos de estos productos, por su formulación, no contienen gluten. Sin embargo, algunos de estos alimentos son procesados en plantas donde se elaboran otros productos con gluten o bien se utilizan materias primas que podrían ingresar al proceso productivo conteniendo gluten si no son controladas; de ahí la relevancia de confirmar la ausencia de gluten a través de ensayos de verificación. Por su parte, pese a que solamente una muestra presentó un contenido >20 ppm, la Tabla 2 evidencia una variedad importante de productos (49 en total, 28% de los productos analizados), elaborados por 17 empresas diferentes, vinculados a un contenido de gluten cuantificable (entre 5 y 20 ppm). De estos resultados sobresale la problemática de que en la mayoría de los casos solo 1 de las 3 muestras analizadas mostró un contenido cuantificable de gluten, sugiriendo así una alta variabilidad en los resultados, la cual se debe posiblemente a la falta de procedimientos estandarizados de operación y medidas para la prevención sistemática de la presencia del grupo de proteínas. Esta condición es de relativa preocupación dado que la literatura reporta que una fracción de pacientes celíacos podrían mostrar sensibilidad a determinadas concentraciones acumulativas de gluten en su dieta. En este tema se indica que la ingesta de gluten en pacientes de la enfermedad celíaca debería mantenerse por debajo 50 mg/d para un adecuado tratamiento de la enfermedad (15). Disponer de tantas opciones de productos comerciales, que eventualmente podrían contener gluten, aumenta la probabilidad de que estos pacientes se vean expuestos al gluten en cantidades inaceptables. Para prevenir estos resultados, resulta recomendable implementar o reforzar sistemas de gestión para el control y prevención de la presencia de este grupo de proteínas. Sobre esta temática vale la pena resaltar que el efecto del consumo de productos “sin gluten” con diferentes grados de contaminación con gluten es inconsistente entre pacientes celíacos. De ahí que la cantidad de gluten tolerable en la dieta varía entre las personas con enfermedad celíaca y, aunque no hay pruebas que sugieran un umbral único definitivo, es poco probable

que una ingesta diaria de gluten <10 mg cause anomalías histológicas significativas (16). Cabe mencionar que autores como por ejemplo Makovicky *et al* (17) han sugerido que el término “libre de gluten” en el etiquetado de alimentos debería reservarse para productos sin ningún tipo de gluten detectable, y que una categoría como por ejemplo “muy bajo en gluten” podría utilizarse para los alimentos con una concentración máxima de gluten de <100 ppm, por ejemplo. Estos últimos productos no se recomendarían para pacientes celíacos dado que, aunque puede ser difícil para un industrial el producir alimentos completamente libres de este conjunto de proteínas, asegurar una dieta libre de gluten es esencial para la salud a largo plazo de las personas con enfermedad celíaca y, aunque la legislación se basa esencialmente en el supuesto de que los pacientes de esta enfermedad pueden consumir cantidades mínimas de gluten, esto no es posible sin un mayor riesgo de que los pacientes sufran de síntomas recurrentes o persistentes.

Finalmente, al evaluar las etiquetas de todos los productos en los que al menos en uno de los lotes se detectó una concentración cuantificable de gluten, se determinó que entre los principales sustitutos del gluten reportados destacaron las harinas de arroz, yuca y maíz, siendo la harina de arroz la más comúnmente utilizada. Estudios adicionales serán requeridos para confirmar que este ingrediente es la causa de las desviaciones reportadas dado que una presencia de gluten se puede vincular a múltiples variables donde impactan no solo la naturaleza de los ingredientes en la formulación sino además la calidad de las materias primas, consistencia de los proveedores, procedimientos de limpieza y desinfección aplicados en la zona de procesamiento, prevención del contacto cruzado, entre otros.

### Conclusiones

El presente estudio evidenció un crecimiento importante en la producción de alimentos etiquetados LG en Costa Rica durante el período de estudio. Destaca el porcentaje mínimo de alimentos reportado con una concentración por encima de lo permitido a nivel de regulación

(>20 ppm). Sin embargo, el alto número de muestras reportadas con una concentración cuantificable de gluten alertó sobre la variabilidad actual presente en los procesos productivos de estos alimentos. Estos resultados son de utilidad como línea base para el establecimiento de regulaciones regionales en el tema y permiten visualizar la posibilidad de realizar estudios similares en otros países o bien con otros alérgenos o componentes de alimentos que pueden representar un riesgo para una determinada población.

### Agradecimientos

Este estudio fue realizado gracias al financiamiento otorgado por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica, proyecto número 735-B5-258 “Diagnóstico de la presencia de gluten en alimentos etiquetados como libres de gluten disponibles en Costa Rica”. Los autores agradecen a Priscilla Chacón por su apoyo técnico.

Declaración de conflicto de interés: Los autores declaran que no hay conflicto de interés.

### Referencias

1. Sharma GM, Pereira M, Williams KM. Gluten detection in food available in the United States – A market survey. *Food Chem* 2015; 169:120-126.
2. Mustalahti K, Catassi C, Reunanen A. *et al.* The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized international mass screening project. *Ann Med* 2010; 42:587-595.
3. Shevkani K, Singh N. Influence of kidney bean, field pea and amaranth protein isolates on the characteristics of starch-based gluten-free muffins. *J Food Sci Technol* 2014; 49:2237-2244.
4. Lerner BA, Phan L, Yates S, Rundle AG, Green P.H.R., Lebowhl B. Gluten Contamination of Restaurant Food: Analysis of Crowd-Sourced Data. Internet. Disponible en: <https://www.eventscribe.com/2018/ACG/fsPopup.asp?Mode=presInfo&PresentationID=442112>. 2019. Última revisión: 9 de enero del 2019.
5. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA. ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease, *Am J Gastroenterol* 2013; 118:656–676.
6. Mills ENC, Valovirta E, Madsen C, Taylor SL, Vieths S, Anklam E, Baumgartner S, Koch P, Crevel RWR, Frewer L. Information provision for allergic consumers – where are we going with food allergen labelling? *Allergy* 2004; 59:1262–1268.
7. Gelinas P, McKinnon CM, Mena MC, Méndez E. Gluten contamination of cereal foods in Canada. *Int J Food Sci Technol* 2018; 43:1245–1252.
8. Gobierno de Costa Rica. 2011. Reglamento Técnico para alimentos para regímenes especiales destinados a personas intolerantes al gluten RTCR 457:2011. Decreto N 36861-S. Disponible en: [http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm\\_texto\\_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=71522&nValor3=86847&strTipM=TC](http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=71522&nValor3=86847&strTipM=TC). Última revisión: 8 de febrero del 2019.
9. Geng T, Westphal CD, Yeung JM. Detection of gluten by commercial test kits: Effects of food matrices and extraction procedures. En Siantar DP, Trucksess MW, Scott PM, Herman EM (Eds.), *Food contaminants: Mycotoxins and food allergens*. Washington, DC: American Chemical Society 2008; 462-475.
10. Sharma GM. Immunoreactivity and detection of wheat proteins by commercial ELISA kits. *J. AOAC* 2012; 95:364–371.
11. *Codex Alimentarius*. Standard for foods for special dietary use for persons intolerant to gluten. CODEX STAN 118-1979. 2015. Disponible en: [file:///Users/jessieusaga/Downloads/CXS\\_118e\\_2015.pdf](file:///Users/jessieusaga/Downloads/CXS_118e_2015.pdf). Última revisión: 14 de enero del 2019.
12. Ministerio de Salud de Costa Rica. 2014. Productos registrados libres de gluten Ministerio de Salud. Disponible en: <http://registrelo.go.cr/cfm/ms/consultasPublicas/>. Última revisión: 3 de marzo del 2014.
13. Martínez SW. Introduction of new food products with voluntary health- and nutrition-related claims, 1989–2010 (Rep. No. EIB-108). United States Department of Agriculture, Economic Research Service 2013.
14. Jnawali P, Kumar V, Tanwar B. Celiac disease: Overview and considerations for development of gluten-free foods. *Food Sci Hum Wellness* 2016; 5:169–176.
15. Catassi C, Fabiani E, Iacono G, D’Agate C, Francavilla R, Biagi F, Volta U, Accomando S, Picarelli A, De Vitis I, Pianelli G, Gesuita R, Carle F, Mandolesi A, Bearzi I, Fasano A. A prospective, double-blind, placebo-controlled trial to establish a safe gluten threshold for patients with celiac disease. *Am J Clin Nutr* 2007; 85:160 – 166.
16. Akobeng AK, Thomas AG. Systematic review: tolerable amount of gluten for people with coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27:1044–1052.
17. Makovicky P, Makovicky P, Lupan I, Samasca G, Sur G, Freeman HG. Perspective: gluten-free products for patients with celiac disease should not contain trace levels. *Adv Nutr* 2017; 8:409–411.

Recibido: 11/02/2019

Aceptado: 16/05/2019

## Diferencias por género en las prácticas de lactancia materna y alimentación complementaria en lactantes de 15 a 24 meses de la zona metropolitana de Guadalajara, México

Lilia Perales-Huerta,<sup>1</sup> Citlalli Álvarez-Zaragoza,<sup>1</sup> Edgar M. Vásquez-Garibay,<sup>1,2</sup>  
Alfredo Larrosa-Haro,<sup>1</sup> Enrique Romero-Velarde,<sup>1,2</sup> Raúl Cervantes-Medina.<sup>2</sup>

### Resumen: Diferencias por género en las prácticas de lactancia materna y alimentación complementaria en lactantes de 15 a 24 meses de la zona metropolitana de Guadalajara, México.

El lactante de 12 a 24 meses es un foco de atención debido a que se encuentra en un periodo de edad de gran vulnerabilidad a la mala nutrición y/o al establecimiento de malos hábitos de alimentación; en consecuencia, es crucial identificar las prácticas de alimentación de los infantes durante los primeros 24 meses de edad. En este estudio, transversal analítico, se reportan las prácticas de lactancia materna y alimentación complementaria de 211 lactantes, de 15 a 24 meses de edad, separados por género. Se obtuvieron las características del lactante, las prácticas de lactancia materna y de alimentación complementaria, el consumo de bebidas azucaradas y de alimentos ultraprocesados. Se utilizaron las pruebas t de Student no pareada, chi cuadrada y se estimó la razón de momios (IC95%). Las madres prolongaron más la lactancia materna en varones. En 99% de los lactantes se observó una ingestión excesiva de alimentos ultraprocesados, y los mismos se consumían con mayor frecuencia (seis veces/semana). La frecuencia de consumo de bebidas azucaradas fue de cinco veces por semana en ambos géneros. La cantidad de bebidas azucaradas consumidas al día fue significativamente mayor en varones y tenían cuatro veces mayor probabilidad de consumir las mismas [RM= 4.9 (IC95% 1.22, 19.5), p=0.02] y mayor probabilidad de consumir jugos procesados [RM=1.94 (IC 95% 0.92, 4.09), p=0.078] que las niñas. En la población estudiada se observó un consumo excesivo de alimentos ultraprocesados y bebidas azucaradas, especialmente entre los varones. *ALAN*, 2019; 69(1): 50-58.

**Palabras clave:** Lactancia materna, alimentos complementarios, lactante, bebidas azucaradas, alimentos ultraprocesados.

### Summary: Gender differences in breastfeeding and complementary feeding practices in infants aged 15 to 24 months in the metropolitan area of Guadalajara, Mexico.

Infants aged 12 to 24 months are a focus of attention because they are in an age period of great vulnerability to poor nutrition and/or the establishment of bad eating habits; consequently, it is crucial to identify infant feeding practices during the first 24 months of age. In this analytical, cross-sectional study, breastfeeding and complementary feeding practices of 211 infants, aged 15 to 24 months, separated by gender, are reported. Infant characteristics, breastfeeding and complementary feeding practices, consumption of sugary drinks and ultra-processed foods were obtained. The unpaired Student t-tests, chi-square were used and the odds ratio (95% CI) was estimated. Mothers prolonged breastfeeding in boys. Excessive ingestion of ultra-processed foods was observed in 99% of infants, and they were consumed more frequently (six times / week). The frequency of consumption of sugary drinks was five times a week in both genders. The amount of sugary drinks consumed per day was, not only significantly higher in boys, but also they were four times more likely to consume this kind of beverages [RM = 4.9 (95% CI 1.22, 19.5), p = 0.02], as well as processed juices [RM = 1.94 (95% CI 0.92, 4.09), p = 0.078] than girls. In this studied population excessive consumption of ultra-processed and sugary drinks was observed, especially among males. *ALAN*, 2019; 69(1): 50-58.

**Key words:** Breastfeeding, complementary foods, toddlers, sugary drinks, ultra-processed foods.

### Introducción

Las prácticas de alimentación infantil, que incluyen el inicio de la lactancia materna exclusiva (LME) por seis meses; la continuación de la lactancia hasta los 24 meses; el uso racional de sucedáneos de la leche humana (SLH) y una alimentación complementaria (AC) adecuada, diversa, perceptiva y libre de gérmenes

<sup>1</sup>Instituto de Nutrición Humana, Universidad de Guadalajara,  
<sup>2</sup> Nuevo Hospital Civil de Guadalajara, México.

Autor para la correspondencia: Edgar M. Vásquez-Garibay  
Email: vasquez.garibay@gmail.com

a partir del sexto mes, representan la piedra angular de una dieta correcta durante los primeros dos años de vida postnatal (1,2).

En México, de acuerdo con datos obtenidos por la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (3), la lactancia materna exclusiva (LME) en niños de 0 a 5 meses disminuyó de 22.3% en 2006 a 14.4% en 2012 (4). Respecto a las prácticas de AC en la población mexicana, por costumbres o por razones culturales, las madres no ofrecen alimentos complementarios nutritivos y diversos ya que 11.7% de lactantes menores de seis meses consumen jugos industrializados, 15.1% alimentos procesados de forma regular y sólo 34-46% de niños entre los seis y doce meses consume alimentos de origen animal (5,6). No se considera que estos últimos son fuente de proteínas de alto valor biológico y micronutrientes indispensable para el crecimiento y desarrollo cognitivo (7-9). Lo anterior, puede conducir a una mala nutrición, ya sea por déficit (desnutrición aguda o crónica) o exceso, con el riesgo de sobrepeso e incluso obesidad (6,10).

Los primeros años de vida se han identificado como un periodo importante para la promoción de la salud y la prevención de enfermedades; por ello, es crucial valorar los hábitos de lactancia materna y de alimentación temprana en poblaciones específicas de un país tan extenso y heterogéneo como México, que en ciertas poblaciones ha mostrado diferencias por género en las prácticas de lactancia materna y alimentación complementaria (11,12). Con esta información se pueden proponer recomendaciones adecuadas que promuevan hábitos de alimentación saludable. Por tanto, el propósito de este estudio es informar sobre las diferencias por género en la práctica de lactancia materna y de alimentación complementaria en lactantes de 15 a 24 meses en una población de estrato bajo y medio bajo atendidos en un hospital público de concentración de la zona metropolitana de Guadalajara, México”.

### **Material y métodos**

En un estudio transversal analítico se incluyeron

211 niños de 15 a 24 meses de edad, nacidos a término, con peso adecuado para la edad gestacional y aparentemente sanos que acudieron a la consulta externa de pediatría del Nuevo Hospital Civil de Guadalajara “Dr. Juan I. Menchaca” de marzo 2016 a enero 2017. No fueron incluidos niños con genopatías, malformaciones congénitas, enfermedades crónicas o niños que no iban con su madre o persona encargada de su alimentación. El tamaño de la muestra se calculó en 196 niños con un nivel alfa de 0.05 y poder de 0.80, con el propósito de explorar adiposidad.

### *Variables.*

Características del niño: Sexo (fenotipo); edad (meses); tipo de parto (vaginal/abdominal); edad gestacional (semanas); peso al nacer (g); longitud al nacer (cm); asistencia a guardería (si/no); edad de ingreso a la guardería (meses). Lactancia: tipo de lactancia en los primeros seis meses (exclusiva, predominante, parcial); duración de la lactancia materna (meses); recibe lactancia materna (si/no); líquidos además de la leche humana (si/no y tipo); tipo de sucedáneo de la leche humana (SLH) con la que inició (categoría); edad de inicio de SLH (meses); duración de la alimentación con SLH (meses); edad a la que suspendió el uso de SLH (meses); edad a la que cambió el tipo de SLH (meses); consumo de leche de vaca (si/no); edad de inicio de consumo de leche de vaca (meses). Introducción de alimentos complementarios (IAC): edad de IAC distintos a la leche (meses); cantidad de IAC (g); número de comidas al día con las que inició AC (número); días que dio el mismo alimento por primera vez (días); preparación de inicio de AC (categoría); tipo de alimento con el que inicio AC (casero/procesado); uso de sal añadida (si/no); uso de azúcar añadida (si/no); edad de introducción de diferentes consistencias del alimento (meses); cantidad de agua natural (mL/d); cantidad de bebidas azucaradas al día (mL); frecuencia de consumo de bebidas azucaradas días/semana (d/s); cantidad de alimentos ultraprocesados (porciones); frecuencia de consumo de alimentos ultraprocesados (d/s); tipo de alimentos ultraprocesados.

### *Método para la recolección de información.*

Se utilizó un cuestionario diseñado especialmente para este proyecto que incluyó datos generales de identificación, datos sociodemográficos, variables de prácticas de lactancia materna y de alimentación complementaria. La información se obtuvo de forma directa, a manera de entrevista con la madre o encargado de alimentar a los lactantes.

*Análisis estadístico.*

En las variables cuantitativas con distribución normal se utilizó ANOVA cuando se analizaron tres grupos y t de Student no pareada cuando se analizaron solo dos grupos. Para las variables cualitativas se utilizó la prueba Chi cuadrada y la razón de momios para explorar la magnitud de la asociación. El nivel de significancia fue considerado con un valor de  $p \leq 0.05$ . La captura y análisis de datos se realizó con el programa SPSS versión 20 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

**Tabla 1.** Hábitos de lactancia materna y uso de sucedáneos de la leche humana por género.

Variables (meses)	Femenino (n=72)			Masculino (n=139)			p <sup>1</sup>
	n	x	DE	n	x	DE	
Duración de lactancia materna	71	9.0	8.1	135	10.1	7.2	0.322
Edad de inicio de fórmula	58	3.2	3.9	103	3.8	5.0	0.391
Duración de alimentación con fórmula	58	13.0	6.2	103	12.7	5.9	0.818
Edad a la que suspendió el uso de fórmulas	19	11.3	4.9	34	12.2	5.9	0.570
Edad a la que cambió el tipo de fórmula							
Fórmula de continuación	39	6.6	2.9	64	7.0	2.3	0.404
Leche de "tercera etapa"	45	11.3	2.2	83	11.6	2.7	0.295
Edad de inicio de consumo de leche de vaca	58	12.6	3.45	102	12.6	3.5	0.994

<sup>1</sup>t de Student

*Consideraciones éticas.*

El estudio se adhirió a las directrices de la Declaración de Helsinki en su última corrección hecha durante la 64ª Asamblea Anual organizada por la Asociación Médica Mundial (2013). La firma del consentimiento informado fue obtenida por las personas legalmente responsables de los lactantes, y el protocolo de investigación fue aprobado por el comité de bioética e investigación del Nuevo Hospital Civil de Guadalajara "Dr. Juan I. Menchaca" con el número de registro 000/030.

**Resultados**

Se incluyeron 211 lactantes (15-24 meses de edad); 34.1% niñas y 65.9% varones con edad de  $19 \pm 2.9$  meses; 40.8% nacieron por vía vaginal y 59.2% por vía abdominal. El peso al nacer (g) de  $3119 \pm 426$  y longitud (cm)  $49.3 \pm 3.2$ , ligeramente mayor en varones. Hubo mayor frecuencia de partos por vía abdominal en niñas que en varones (65.3% vs 56.1%). La duración promedio de LM en la población estudiada fue de 9.7 meses. La tabla 1 muestra que los hábitos de lactancia materna y el uso de SLH no difieren entre ambos géneros; sin embargo, las madres prolongaron más la LM en varones; en consecuencia, el inicio de SLH se retrasó más.

Se observó que en la población total la frecuencia de LME (solo permitido el uso de gotas de vitaminas, minerales o medicamentos) fue de alrededor de 24.8% hasta los seis meses de edad postnatal; la frecuencia de LM predominante (incluye uso de agua, té, jugos de fruta) fue de 22.8%; LM parcial (desde una o más tomas de SLH) 37.9% y uso de SLH solo 14.6%. Respecto al consumo de líquidos extras a la leche humana en los primeros seis meses de vida, los niños de 22 a 24 meses tuvieron tres veces mayor probabilidad de consumir jugos (frutas e industrializados) en comparación de los niños de 15-18 meses [RM= 3.3 (IC95% 1.4, 7.8),  $p=0.007$ ]. En relación con el uso de SLH en los primeros seis meses de vida, los niños de 15-18 meses de edad tuvieron 2.5 veces mayor probabilidad de iniciar con un SLH en los primeros seis meses que niños de 22-24 meses [RM= 2.5 (IC95% 1.3, 5.2),  $p=0.008$ ].

La tabla 2 muestra que la edad de inicio de la AC en ambos géneros fue alrededor de los seis meses. Hubo una progresión de introducción de alimentos adecuada para la edad en ambos géneros a excepción de las carnes que se introdujeron meses después de la recomendación de introducirlos a los seis meses. Un hallazgo alarmante fue que la introducción de jugos y dulces ocurrió antes del primer año de vida tanto en niñas como en varones. La edad de introducción de bebidas carbonatadas y embutidos, que no forman parte de una dieta saludable, ocurrió a una temprana edad, alrededor de los trece meses en ambos géneros. No hubo diferencias significativas en la edad de introducción de alimentos complementarios por género, a excepción de la edad de introducción de pescados y mariscos que fue más temprana en varones.

Respecto a la consistencia de los alimentos se observó que las madres iniciaron con papillas; después optaron por diferentes consistencias, primero ofrecieron caldos (en forma más temprana en varones), después alimentos picados y finalmente en trozos. No hubo diferencias en el número de comidas que se ofrecían al día, cantidad por tiempo de comidas y número de colaciones en ambos géneros. Sin embargo, hubo una tendencia a mayor consumo de agua natural en varones. La frecuencia de consumo de bebidas azucaradas fue similar en ambos géneros, alrededor de cinco veces por semana, sin embargo, la cantidad de bebidas azucaradas consumidas al día fue significativamente mayor en varones que en niñas. Un hallazgo de interés fue el consumo de alimentos ultraprocesados, ya que tanto niñas como varones consumían 1.8 porciones cinco veces por semana. Otro hallazgo de interés fue que las niñas iniciaron a alimentarse sin ayuda a menor edad que los varones ( $p=0.05$ ), tabla, 3.

En la población total, las bebidas azucaradas más consumidas fueron los jugos (83%), aguas de fruta (73%) y refrescos (59%). Los varones tenían cuatro veces mayor probabilidad de consumir bebidas azucaradas [RM= 4.9 (IC95% 1.22, 19.5),  $p=0.02$ ] y mayor probabilidad de consumir jugos procesados [RM=1.94 (IC95% 0.92, 4.09),  $p=0.078$ ] que las niñas. Alrededor de noventa y nueve por ciento de

**Tabla 2.** Edad de introducción de alimentos complementarios por género.

Variables (meses)	Femenino (n=72)			Masculino (n=139)			p <sup>1</sup>
	n	x	DE	n	x	DE	
Frutas	72	6.0	1.7	138	6.3	1.9	0.301
Verduras	72	6.3	2.0	138	6.2	1.9	0.715
Cereales	72	8.0	2.3	138	7.8	2.5	0.666
Leguminosas	72	10.2	2.6	137	9.9	2.9	0.505
Carnes o pollo	70	11.0	2.8	137	10.7	3.1	0.586
Huevo	69	12.0	3.3	133	11.4	3.0	0.206
Pescados y mariscos	46	14.6	3.3	82	13.0	3.1	0.008
Embutidos	58	13.5	3.5	114	13.2	3.2	0.589
Quesos	59	12.9	3.1	110	12.9	3.7	0.997
Cítricos	69	10.2	3.6	134	9.8	3.5	0.485
Oleaginosas	37	13.8	3.3	69	14.0	3.3	0.860
Jugos industrializados	68	9.12	3.5	135	8.7	3.5	0.371
Bebidas carbonatadas	50	12.1	3.4	98	13.1	3.6	0.121
Dulces	67	11.5	4.3	124	11.7	3.8	0.654
Agua natural	71	5.1	3.0	138	5.3	2.8	0.772

<sup>1</sup> t de Student

las niñas y varones consumieron alimentos ultra-procesados, los más consumidos fueron las galletas, pan frituras/papitas, dulces y chocolates. En relación con la frecuencia de consumo de alimentos ultraprocesados, las niñas tuvieron mayor consumo de galletas, pan y dulces y los varones mayor consumo de frituras/papitas, embutidos y yogurt adicionado con azúcar, tabla 4.

**Tabla 3.** Prácticas de alimentación complementaria por género en lactantes entre los 15 y 24 meses de edad.

Variables	Femenino (n=72)			Masculino (n=139)			p <sup>1</sup>
	n	x	DE	n	x	DE	
Edad de cambios de consistencia (meses)	72	6.0	1.7	138	6.3	1.9	0.301
Papillas	71	5.8	1.6	135	5.9	1.6	0.882
Caldos	72	6.7	2.2	138	6.2	1.8	0.086
Picados	71	9.4	2.2	136	9.1	2.5	0.504
Trozos pequeños	69	12.5	2.6	131	12.1	2.8	0.317
Número de comidas al día	72	3.1	0.5	138	3.1	0.5	0.972
Cantidad en cada tiempo de comida (g)	72	211	100	138	233	99.5	0.127
Número de colaciones al día	72	1.6	0.8	138	1.7	0.7	0.564
Cantidad de agua natural (mL)	71	326	290	138	410	328	0.070
Cantidad de bebidas azucaradas al día (mL)	71	255	232	138	353	327	0.014
Frecuencia de consumo de bebidas azucaradas (d/semana)	71	4.8	2.5	138	5.2	2.4	0.276
Cantidad de alimentos ultraprocesados (porciones)	71	1.8	0.9	137	1.8	0.9	0.780
Frecuencia de consumo de alimentos ultraprocesados (d/semana)	71	5.5	2.1	137	5.8	1.8	0.208
Edad que inició de alimentación sin ayuda (meses)	65	12.3	3.4	117	13.3	3.5	0.05
Agua natural	71	5.1	3.0	138	5.3	2.8	0.772

<sup>1</sup>t de Student**Tabla 4.** Consumo de bebidas azucaradas y alimentos ultraprocesados por género en lactantes entre los 15 y 24 meses de edad

Variables	Femenino (n=72)		Masculino (n=139)	
	n	%	n	%
Consumo de bebidas azucaradas <sup>1</sup>	65	91.5	136	98.6
Tipo de bebidas azucaradas				
Jugos procesados <sup>2</sup>	55	77.5	120	87.0
Refrescos	44	62.0	80	58.0
Tés	16	22.5	36	26.1
Aguas de fruta	52	73.2	100	72.5
Consumo de alimentos ultraprocesados	70	98.6	138	100
Tipo de alimentos ultraprocesados				
Galletas	67	94.4	128	92.8
Panes	61	85.9	107	77.5
Cereales	46	64.8	95	68.8
Frituras/Papitas	36	50.7	81	59.1
Dulces	55	77.5	102	74.5
Embutidos	41	57.7	82	59.9
Chocolates	33	46.5	68	49.6
Yogurt adicionados con azúcar	57	80.3	118	86.1
Enlatados	10	14.1	19	13.9

<sup>1</sup> Consumo de bebidas azucaradas: varones vs niñas [RM= 4.9 (IC95% 1.22, 19.5), p= 0.02];<sup>2</sup> Consumo de jugos procesados: varones vs niñas [RM=1.94 (IC95% 0.92, 4.09), p= 0.078].

## **Discusión**

Un hallazgo de interés fue que del total de la muestra, solo 34.1% eran niñas. Existe la posibilidad, como se ha descrito en otros estudios (13,14), que las madres privilegien la atención médica del varón; o bien, a un potencial sesgo debido a que algunos servicios de consulta externa del hospital reciben a más varones que a niñas (vg. cirugía pediátrica). Seis de cada diez lactantes nacieron por vía cesárea, incidencia alejada de la recomendada por la Organización Mundial de la Salud de 10% a 15% por indicación médica (15). Esta incidencia tan elevada de cesáreas tendría efectos adversos para una lactancia materna exitosa (16).

La frecuencia de LME (solo permitido el uso de gotas de vitaminas, minerales o medicamentos) fue de alrededor de 24.8% hasta los seis meses de edad postnatal; frecuencia superior a la reportada por ENSANUT (2012) de 14.4% en lactantes menores de seis meses. Por otra parte, la frecuencia de LM predominante (incluyendo uso de agua, tés, jugos de fruta) fue de 22.8%, hallazgo similar a lo reportado por la ENSANUT de 25% (3).

Se observó que en general la duración de LM fue alrededor de nueve a diez meses en la población estudiada. Esta duración difiere notablemente de la aconsejada por la OMS de prolongarla hasta los 24 meses (1). También se observó que la edad de inicio con SLH fue más precoz en niñas que en varones, lo cual significaría que existe una tendencia a propiciar un destete más temprano en las niñas. Este hallazgo tendría implicaciones socio-antropológicas importantes dado el efecto discriminatorio por género observado en otros estudios en México (12,17).

Los niños de 15-18 meses de edad tuvieron 2.5 veces mayor probabilidad de iniciar con un SLH en los primeros seis meses de vida que niños de 22-24 meses [RM= 2.5 (IC95% 1.3, 5.2), p=0.008]. Este hallazgo es relevante porque mostraría que hay una tendencia a abandonar la LM durante el primer semestre de vida posnatal en lactantes nacidos más recientemente, lo cual significaría que la estrategia

de fomento a la LM requiere ser revisada constantemente y si es subóptima, debe ser modificada y mejorada.

En México, es común que las madres utilicen la nomenclatura comercial de las fórmulas de primera etapa para los primeros seis meses, de segunda etapa (continuación) para los seis a doce meses y de tercera etapa a partir de los doce meses. En este contexto se observa que no hubo diferencias por género en el uso de SLH. La edad de inicio del consumo de leche entera de vaca ocurrió correctamente alrededor de los doce meses en ambos géneros. Contrario a este hallazgo, en México se ha reconocido que el consumo de leche de vaca es precoz en niños menores de un año (5,18). En los datos reportados por la ENSANUT (3), la prevalencia del consumo de leche de vaca en lactantes de 0-5.9 meses fue de 1-10% y aumentó a 14-38% en lactantes de 6-11.9 meses. Se ha reportado que la introducción temprana de leche de vaca se asocia a un incremento del riesgo de desarrollar anemia por deficiencia de hierro, un problema de salud pública en México, especialmente en niños de uno a cuatro años (23%) y sobretodo en lactantes de 12 a 24 meses de edad (38%) (3,19).

En los primeros seis meses de vida, los niños de 22 a 24 meses tuvieron tres veces mayor probabilidad de consumir jugos (de frutas e industrializados) extras a la leche humana en comparación con los niños de 15-18 meses [RM= 3.3 (IC95% 1.4, 7.8), p=0.007]. Similar a este hallazgo, diversos autores han reportado que los lactantes menores de seis meses consumen jugos industrializados (11,20). Se ha señalado que las bebidas azucaradas aportan energía pero cantidades mínimas de otros nutrimentos, lo cual puede desplazar alimentos de mayor calidad nutricia y contribuir al incremento de sobrepeso, obesidad y/o a la desnutrición (6,21).

En relación con las prácticas de AC, en ambos géneros la edad de inicio de la AC fue alrededor de los seis meses, hallazgo similar a lo reportado por la ENSANUT (3) y apegado a las recomendaciones de organismos nacionales e internacionales de iniciar con los alimentos complementarios a partir de los seis meses de edad (5). Hubo una progresión adecuada de introducción de alimentos para la edad, a excepción de las carnes que se introdujeron meses después de la recomendación de iniciar a los seis meses. Se ha reconocido que no hay evidencia científica para seguir una secuencia específica en la introducción de alimentos complementarios (22-25). Por

el contrario, debido a las demandas crecientes de energía, hierro y zinc del lactante a partir del sexto mes de vida, los cereales adicionados con hierro y las carnes son considerados los alimentos más adecuados para iniciar el proceso de la alimentación complementaria (26). Diversos estudios han reportado un bajo consumo de alimentos ricos en hierro, en alrededor 54-56% (27, 28) e ingestiones insuficientes de hierro en niños mexicanos de seis a doce meses (29).

No hubo diferencias significativas en la edad de introducción de alimentos complementarios por género, a excepción de la introducción de pescados y mariscos que fue más temprana en varones. Respecto a la consistencia de los alimentos, las madres iniciaron con papillas; después optaron por diferentes consistencias, primero ofrecieron caldos (en forma más temprana en varones), después alimentos picados y finalmente en trozos. En México, el consumo de caldos en lactantes es frecuente, ya que existe la idea errónea de que estos alimentos son ricos en nutrimentos. Es conocido que los caldos no contienen hierro o vitaminas como popularmente se cree y por tanto el estado nutricional puede verse afectado (23).

Un hallazgo inquietante fue la frecuencia de consumo de bebidas azucaradas, alrededor de cinco veces por semana en ambos géneros. La cantidad de bebidas azucaradas consumidas al día fue significativamente mayor en varones que en niñas quienes tenían cuatro veces mayor probabilidad de consumir estos alimentos [RM= 4.9 (IC95% 1.22, 19.5),  $p=0.02$ ] y mayor probabilidad de consumir jugos procesados [RM=1.94 (IC95% 0.92, 4.09),  $p=0.078$ ]. Estos hallazgos no coinciden con lo reportado por otros autores (30). Sin embargo, se ha descrito que el aporte energético de las bebidas azucaradas tiene poco o nulo efecto sobre la producción de saciedad en comparación con los sólidos ya que no se detecta el aporte energético y no hay regulación posterior del apetito y la consecuente ingestión de alimentos (31). Además, aunque el deseo por el sabor dulce es innato; su consolidación es influenciada por la experiencia, es decir, por el consumo repetido de alimentos dulces durante la infancia (32).

Otro hallazgo preocupante fue el consumo de alimentos ultraprocesados ya que alrededor de 99% de los lactantes tuvieron una ingestión excesiva y representaron uno de los alimentos consumidos con mayor frecuencia (1.8 porciones, cinco veces por semana). Este resultado es consistente con el aumento en el consumo de alimentos ultraprocesados en niños mexicanos de dos a cinco años entre 1988 y 2012 (33)

y reflejaría las creencias culturales, ya que este tipo de alimentos son utilizados como “recompensa” o bien por la practicidad que ofrecen (34).

También es inquietante que los alimentos ultraprocesados y las bebidas azucaradas formen parte la dieta de los lactantes de 15 a 24 meses en México. Esto representa un foco de atención en los hábitos alimentarios de los niños pequeños en quienes no se recomienda el consumo de bebidas azucaradas y alimentos ultraprocesados ya que se encuentran en un periodo crítico del establecimiento de sus hábitos de alimentación (4,32). Si desde una edad temprana se genera el gusto por el azúcar, después la preferencia se orientará al consumo de alimentos de sabores dulces, que a largo plazo podrían generar un deterioro irreversible en los hábitos de alimentación (4).

Las principales fortalezas del presente estudio fueron, la inclusión de una muestra significativa de lactantes que permitió la estratificación por género y un análisis de las prácticas de lactancia materna y alimentación complementaria. Una limitación es que se trata de un estudio de diseño transversal que se realizó en una zona urbana de estrato socioeconómico medio bajo y bajo, por tanto, podría no ser extrapolable a otros estratos socioeconómicos. Otra limitación fue que no se evaluaron las creencias, conocimientos y barreras de las mamás en relación con las prácticas de alimentación complementaria; estos factores podrían influir en la forma en que las madres mexicanas alimentan a sus hijos.

El estudio mostró desviaciones en las prácticas de lactancia materna y alimentación complementaria en los menores de 24 meses de edad, grupo altamente vulnerable a la desnutrición, al inicio del sobrepeso y obesidad con las consecuencias potenciales a mediano y largo plazo en la aparición temprana de enfermedades crónicas relacionadas con la nutrición. Estos hallazgos refuerzan la necesidad de realizar programas educativos de nutrición dirigidos a padres y cuidadores de niños con el propósito de promover hábitos saludables de alimentación desde las etapas tempranas de la vida ya que la desviación de estos hábitos podría ser irreversible.

## Referencias

1. World Health Organization. Alimentación del lactante y del niño pequeño, 2018. (Fecha de acceso: Junio, 2018). Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs342/es/>
2. UNICEF. Breastfeeding: A Mother's Gift, for Every Child, 2018. (Fecha de acceso: Junio, 2018). Disponible en: [https://www.unicef.org/publications/files/UNICEF\\_Breastfeeding\\_A\\_Mothers\\_Gift\\_for\\_Every\\_Child.pdf](https://www.unicef.org/publications/files/UNICEF_Breastfeeding_A_Mothers_Gift_for_Every_Child.pdf)
3. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT), 2012. Resultados Nacionales. Instituto Nacional de Salud Pública (Mex). (Fecha de acceso: Mayo, 2018). Disponible en: <https://ensanut.insp.mx/informes/ENSANUT2012ResultadosNacionales.pdf>
4. González T, Escobar L, González D, Reyes H, Rivera J. Breastfeeding in Mexico was stable, on average, but deteriorated among the poor, whereas complementary feeding improved results from the 1999 to 2006 National Health and Nutrition Surveys. *J Nutr*. 2013; 143: 664–671. DOI: 10.3945/jn.112.163097
5. Deming D, Afeiche M, Reidy K, Eldridge A, Villalpando S. Early feeding patterns among Mexican babies: findings from the 2012 National Health and Nutrition Survey and implications for health and obesity prevention. *BMC Nutrition*. 2015; 1:40 DOI 10.1186/s40795-015-0035-5
6. Pantoja I, Melendez G, Guevara M, Serralde A. Review of complementary feeding practices in Mexican children. *Nutr Hosp*. 2015; 31: 552-558. DOI: 10.3305/nh.2015.31.2.7668
7. Krebs N, Mazariegos M, Tshetu A, Bose C, Sami N, Carlo W, et al. Meat consumption is associated with less stunting in four diverse low-income settings. *Food Nutr Bull*. 2011; 32: 185–191. DOI: 10.1177/156482651103200301
8. Tang M, Sheng X, Krebs N, Hambidge K. Meat as complementary food for breastfed infants and toddlers: A randomized, controlled trial in rural China. *Food Nutr Bull*. 2014; 35:188-92. DOI: 10.1177/15648265140354S304
9. Beltrán B, Matute E, Vásquez E, Zarabozo D. Effect of chronic iron deficiency on neuropsychological domains in infants. *J Child Neurol*. 2012; 27(3):297-303. doi: 10.1177/0883073811416867
10. Mameli C, Mazzantini S, Zuccotti G. Nutrition in the First 1000 Days: The Origin of Childhood Obesity. *Int J Environ Res Public Health*. 2016; 13: e838. DOI: 10.3390/ijerph13090838
11. Vásquez E, Ávila E, Contreras T, Cuellar L, Romero E. Factores de riesgo, asociados al estado nutricional en lactantes que son atendidos en guarderías. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2007; 64: 18-28. ISSN 1665-1146
12. Vásquez E, Guzmán E, Larrosa A, Muñoz Esparza N. Is there gender discrimination in full breastfeeding in Mexico? *Nutr Hosp*. 2019, in edition.
13. Khera R, Jain S, Lodha R, Ramakrishnan S. Gender bias in childcare and child health: global patterns. *Arch Dis Child*. 2014; 99: 369-74. DOI: 10.1136/archdischild-2013-303889
14. Vlassoff C. Gender differences in determinants and consequences of health and illness. *J Health Popul Nutr*. 2007; 25: 47-61. PMID: 17615903
15. Pan American Health Organization (PAHO) and World Health Organization (WHO) (2015). La cesárea solo debería realizarse cuando es médicamente necesaria. (Fecha de acceso: Junio, 2017). Disponible en: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10646%3A2015-la-cesarea-solo-deberia-realizarse-cuando-es-medicamente-necesaria&Itemid=1926&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10646%3A2015-la-cesarea-solo-deberia-realizarse-cuando-es-medicamente-necesaria&Itemid=1926&lang=es)
16. Stevens J, Schmied V, Burns E, Dahlen H. Immediate or early skin-to-skin contact after a caesarean section: a review of the literature. *Matern Child Nutr*. 2014; 10: 456-73. DOI: 10.1111/mcn.12128
17. Griebler U, Bruckmüller M, Kien C, Dieminger B, Meidlinger B, Seper K, et al. Health effects of cow's milk consumption in infants up to 3 years of age: a systematic review and meta-analysis. *Public Health Nutr*. 2015; 20: 293-307. DOI: 10.1017/S1368980015001354
18. Villagrán E, Hurtado E, Vasquez E, Troyo R, Aguirre L, Larrosa A, et al. Introduction of pasteurized/raw cow's milk during the second semester of life as a risk factor of type 1 diabetes mellitus in school children and adolescents. *Nutr Hosp*. 2015; 32: 634-7. doi: 10.3305/nh.2015.32.2.9247
19. De la Cruz V, Villalpando S, Mundo V, Shamah T. Prevalence of anemia in Mexican children and adolescents: Results from three national surveys. *Salud Publica Mex*. 2013; 55: 180–9. PMID: 24626694
20. Silva N, Toloni M, de Menezes R, Asakura L, Oliveira M, Taddei J. Introduction of soft drinks and processed juice in the diet of infants attending public day care centers. *Rev Paul Pediatr*. 2015; 33: 34-41. DOI: 10.1016/j.rpped.2014.06.009
21. Vartanian L, Schwartz M, Brownell K. Effects of soft drink consumption on nutrition and health: A systematic review and meta-analysis. *Am J Public Health*. 2007; 97: 667-675. DOI: 10.2105/AJPH.2005.083782
22. Alvisi P, Brusa S, Alboresi S, Amarri S, Bottau P, Cavagni G, et al. Recommendations on complementary feeding for healthy, full-term infants. *Ital J Pediatr*. 2015; 28: 41-36. DOI: 10.1186/s13052-015-0143-5

23. Romero E, Villalpando S, Perez A, Iracheta M, Alonso C, López G, et al. Consenso para las prácticas de alimentación complementaria en lactantes sano. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 2016; 73: 338-356. DOI: 10.1016/j.bmhmx.2016.06.007
24. World Health Organization. Infant and Young Child Feeding Model Chapter for Textbooks for Medical Students and Allied Health Professionals. Geneva. World Health Organization (2009). (Fecha de acceso: Mayo, 2018). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK148965/>
25. Fewtrell M, Bronsky J, Campoy C, Domellöf M, Embleton N, Fidler Mis N, et al. Complementary Feeding: A Position Paper by the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition (ESPGHAN) Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017; 64: 119-132. DOI: 10.1097/MPG.0000000000001454
26. Tang M, Krebs N. High protein intake from meat as complementary food increases growth but not adiposity in breastfed infants: a randomized trial. *Am J Clin Nutr.* 2014; 100: 1322-8. DOI: 10.3945/ajcn.114.088807.
27. González D, González T, Barquera S, Rivera J. Alimentos industrializados en la dieta de los preescolares mexicanos. *Salud Pública Mex.* 2007; 49:345-356
28. Jimenez A, Bacardi M, Pichardo A, Mandujano Z, Castillo O. Infant and toddlers' feeding practices and obesity amongst low-income families in Mexico. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2010; 19: 316-23. PMID: 20805074
29. Piernas C, Miles D, Deming D, Reidy K, Popkin B. Estimating usual intakes mainly affects the micronutrient distribution among infants, toddlers and preschoolers from the 2012 Mexican National Health and Nutrition Survey. *Public Health Nutr.* 2015; 18:1-10. DOI: 10.1017/S1368980015002311
30. Mazarello V, Hesketh K, O'Malley C, Moore, Summerbell C, Griffin S, et al. Determinants of sugar sweetened beverage consumption in young children: a systematic review. *Obes Rev.* 2015; 16: 903-913. DOI: 10.1111/obr.12310
31. Mourao D, Bressan J, Campbell W, Mattes R. Effects of food form on appetite and energy intake in lean and obese young adults. *Int J Obes (Lond).* 2007; 31:1688-95. DOI: 10.1038/sj.ijo.0803667
32. Viana V, Santo P, Guimarães M. Eating behavior and food habits in children and adolescents: a literature review. *Psic, Saude & Doenças (online).* 2008; 9: 209-31. ISSN 1645-0086.
33. Duffey K, Rivera J, Popkin B. Snacking is prevalent in Mexico. *J Nutr.* 2014; 144:1843-9. DOI: 10.3945/jn.114.198192
34. Monterrosa E, Peltó G, Frongillo E, Rasmussen K. Constructing maternal knowledge frameworks. How mothers conceptualize complementary feeding. *Appetite.* 2012; 59: 377-84. DOI: 10.1016/j.appet.2012.05.032

Recibido: 11/04/2019  
Aceptado: 29/07/2019

## Primer reporte de *Escherichia coli* Productora de Toxina Shiga no O157 que codifica el gen de la enterohemolisina en carne cruda en Colombia

Fanny Herrera Arias,<sup>1\*</sup> Jesús Santos Buelga,<sup>2</sup> Raquel Villamizar Gallardo.<sup>1</sup>

**Resumen:** Primer reporte de *Escherichia coli* Productora de Toxina Shiga no O157 que codifica el gen de la enterohemolisina en carne cruda en Colombia. Dentro de los patotipos de *Escherichia coli*, el grupo STEC puede producir en el ser humano desde diarrea hemorrágica hasta insuficiencia renal aguda e incluso la muerte; el ganado bovino es el principal reservorio de este agente patógeno y por ende la ingestión de alimentos derivados de estos animales de abasto son una fuente muy importante de infección para el hombre. El objetivo principal de este estudio fue determinar la prevalencia de STEC en muestras de carne cruda comercializada en Pamplona-Colombia y en cepas obtenidas a partir de las muestras. Se analizaron cien muestras de carne cruda aplicando la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa para la detección de los siguientes genes en muestras y en cepas STEC: *stx1*, *stx2*, *eae* y *hlyA*. Adicionalmente, se estableció el patrón de resistencia-susceptibilidad antibiótica de cepas STEC aisladas empleando métodos regulados. En el 39% de las muestras fue posible detectar el gen *stx2*; en el 38%, de ellas, se detectaron los genes *stx1* y *stx2*. Además, se aislaron cepas STEC en el 13% de las muestras analizadas, 85% de ellas portaban el gen *hlyA*. No se detectó la presencia del gen *eae* o del serogrupo O157. Las cepas aisladas demostraron resistencia frente a algunos antibióticos de primera y segunda generación. En conclusión, se detectó la presencia de genes que codifican factores de virulencia en las muestras de carne analizadas que representan un riesgo potencial para la salud de los consumidores. Este es el primer reporte de STEC no O157 que codifica el gen de la enterohemolisina en alimentos en Colombia. **ALAN, 2019; 69(1): 59-67.**

**Palabras clave:** Enterohemolisina, *Escherichia coli*, carne, STEC no-O157, Toxina Shiga.

**Summary:** First report of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* non-O157 that encodes the enterohemolysin gene in raw beef in Colombia. Within the *Escherichia coli* patotypes, the STEC group can produce in humans from hemorrhagic diarrhea to acute renal failure and even death; cattle are the main reservoir of this pathogen and therefore the ingestion of food derived from these stock animals are a very important source of infection for man. The main objective of this study was to determine the prevalence of STEC in raw meat samples marketed in Pamplona-Colombia and in strains obtained from those samples. One hundred raw meat samples were analyzed using the Polymerase Chain Reaction technique for the detection of the following genes in samples and in STEC strains: *stx1*, *stx2*, *eae* and *hlyA*. In addition, STEC strains were isolated in 13% of the analyzed samples, 85% of them carried the *hlyA* gene. The presence of the *eae* gene or serogroup O157 was not detected. The isolated strains demonstrated resistance against some first and second generation antibiotics. In conclusion, the presence of genes encoding virulence factors in the meat samples analyzed, that represent a potential health risk factor to consumers, was confirmed. This is the first report of STEC non-O157 that encodes the enterohemolysin gene in foods in Colombia. **ALAN, 2019; 69(1): 59-67.**

**Key words:** Enterohemolysin, *Escherichia coli*, Beef, STEC, no-O157, Shiga Toxin.

### Introducción

La carne es un sustrato nutritivo con una actividad de agua de  $a_w$  (0.99) adecuada para el crecimiento de la mayoría de los microorganismos. El crecimiento microbiano ocurre principalmente a expensas de moléculas de bajo peso molecular (carbohidratos, lactato y aminoácidos). Bajo este contexto, la carne de origen bovino es

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Básicas. Universidad de Pamplona. <sup>2</sup>Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, España.

Autor para la correspondencia: Fanny Herrera Arias. Email: fannh@unipamplona.edu.co

reconocida como una fuente importante de infección por patotipos de *Escherichia coli*; estos se caracterizan por los antígenos O (somáticos) y H (flagelares) que definen serogrupos (sólo el antígeno O) o serotipos (antígeno O y antígeno H) (1).

Los patotipos existentes de *Escherichia coli* son: *E. coli* Enteropatógena, *E. coli* Enteroinvasiva, *E. coli* Enterotoxigénica, *E. coli* Enterohemorrágica, *E. coli* Enteroagregativa y *E. coli* Enterohemorrágica (ECEH). La *Escherichia coli* Enterohemorrágica puede producir lesiones de adhesión-borrado en las microvellosidades del epitelio intestinal debido a la presencia de la isla de patogenicidad LEE, pero su característica principal es la capacidad de producir toxinas. La molécula Stx1 es una estructura altamente conservada que es idéntica a la de la toxina Shiga de *Shigella dysenteriae* tipo 1; en contraste, hay varias variantes antigénicas de Stx2 que difieren en su actividad biológica y asociación con la enfermedad. Aunque existen más de 200 serotipos de cepas de *E. coli* capaces de producir toxinas Shiga, la mayor parte no poseen la isla de patogenicidad LEE. Esto ha llevado al uso del término de *E. coli* productoras de toxinas Shiga (STEC) para designar a cualquier cepa de *E. coli* que produce toxinas *Stxs* y el término EHEC para las cepas que, además de producir *Stx*, contienen la isla de patogenicidad LEE (1). En esta isla de patogenicidad se hallan los genes que codifican para la proteína externa de membrana (intimina –*eae*–), los genes *esp* (*E. coli* secreted proteins a, b y d), el gen que codifica para el receptor traslocado de intimina Tir (*translocated intimin receptor*) y los genes para la síntesis del sistema de secreción tipo III (1). Otros factores de virulencia incluyen fimbrias, OMPs, el lipopolisacárido (LPS O157) o el plásmido pO157 y la enterohemolisina, presente en la mayor parte de cepas STEC, que contribuye al desarrollo de enfermedad a través de la lisis de eritrocitos y la liberación de hemoglobina como fuente de hierro para la bacteria (2).

La infección por STEC se produce por ingestión de alimentos contaminados, siendo su principal reservorio el tracto gastrointestinal de los bovinos. Las cepas STEC, además de tener una dosis infecciosa muy baja (10-100 células), sobreviven en su paso a través del tracto gastrointestinal porque suelen ser resistentes a la acidez; una vez en el intestino, se presenta enfermedad de diferente gravedad dependiendo de los factores de virulencia que presente la cepa en cuestión.

El factor de virulencia más importante de las cepas STEC son las toxinas Shiga; estas son producidas en el intestino grueso y ejercen una acción local al inducir apoptosis en las células epiteliales del intestino, dando lugar a diarrea hemorrágica, colitis hemorrágica (CH), necrosis y formación de úlceras. Además, estas toxinas pueden viajar a través del torrente sanguíneo hasta los riñones, dando lugar a inflamación renal. El daño renal puede evolucionar al Síndrome Urémico Hemolítico (SUH), caracterizado por anemia hemolítica, trombocitopenia e insuficiencia renal aguda (2).

De acuerdo con el Centro de Control y Prevención de Enfermedades de los EEUU (CDC) entre el 2009-2015 el patotipo STEC fue la segunda causa bacteriana de brotes de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETAs) en ese país, estando entre los agentes que ocasionan mayor porcentaje de hospitalizaciones y muertes, 13 y 9%, respectivamente; siendo los serogrupos principalmente identificados O157, O26, O111, O121, O145, O45, O103 y O186 (3).

En Colombia, el primer reporte de *E. coli* O157 en alimentos se presentó en carne de res y cerdo (4). A partir de aquí, se ha reportado la presencia de STEC en diferentes alimentos de origen animal (5, 6,7).

El tratamiento de las infecciones en humanos por STEC con antibióticos es controversial debido al incremento de cepas multirresistentes; de hecho, se han detectado cepas ambientales aisladas de animales y/o alimentos resistentes a la ampicilina, estreptomycin, trimetoprim/sulfonamida, eritromicina, cefalotina, amikacina, kanamicina y gentamicina, entre otros (8,9).

Los objetivos de este estudio fueron, determinar la prevalencia de STEC en muestras de cárnicos crudos de origen bovino expendidos en la Ciudad de Pamplona, Colombia, estableciendo, la presencia de genes que codifican factores de virulencia en cepas aisladas a partir de las muestras y el patrón de resistencia-susceptibilidad antibiótica de estas cepas.

## Materiales y Métodos

### Tipo de muestreo y tamaño de la muestra:

Se realizó un muestreo no probabilístico intencional, conformado por 100 muestras de carne cruda de bovino expendidos formalmente en la ciudad de Pamplona (Colombia) que incluían carne molida (80 muestras) y porcionada (20 muestras). Se tomaron, aproximadamente, 200 g de cada muestra y se transportaron en condiciones de refrigeración, realizando los análisis microbiológicos en un periodo no mayor a 2 horas.

### Detección de los genes *stx1* y *stx2* en las muestras mediante PCR:

De cada una de las muestras se tomaron 10 g y se dispensaron en 90 ml de Caldo Trypticasa de Soja (TSB) e incubadas a 37°C durante 24 horas; posteriormente se transfirieron 700 µL y se resuspendieron en 700 µL de glicerol, conservando a temperatura de congelación. A partir de la muestra congelada, se tomaron 100 µL, se inocularon en TSB, e incubados a 37°C durante 24 horas. 1 mL del caldo fue centrifugado a 12,000 rpm/3 min; Posteriormente, se adicionaron 200 µL de Chelex, resuspendiendo el pellet completamente, se agitó cada tubo empleando un vortex durante

10 segundos; luego se transfirió cada tubo a un bloque de calentamiento a 100°C durante 10 minutos. Finalmente, cada tubo fue centrifugado a 12,000 rpm /3 min.

Se realizó una PCR múltiple para detectar los genes *stx1* y *stx2*. Se emplearon los pares de cebadores correspondientes a una concentración de 25 mM y un cóctel comercial 5 PRIME MasterMix (Taq polimerasa, buffer, dNTPs y Mg+2). (Tabla 1). Fueron amplificados los diferentes genes en un equipo Mastercycler Personal. El ciclo de amplificación fue el siguiente: se realizó una desnaturalización inicial a 95°C durante 5 minutos, seguida de 25 ciclos, cada uno de ellos compuesto por tres pasos; un primer paso de desnaturalización a 95°C durante 30 segundos, un segundo de hibridación a 56°C durante 40 segundos y una elongación a 72°C durante 1 minuto. Finalmente, se realizó un último paso de elongación final a 72°C durante 7 minutos. Se sometieron los productos de la amplificación (5 µl) a electroforesis en gel de agarosa (Bio-Rad) al 1,5 % p/v a 100 V durante 1 h. Se realizó la visualización mediante tinción con RedSafe™, empleando un transiluminador de luz ultravioleta, documentando con la aplicación del Digimage System acoplado a una cámara digital Canon Power Shot G11.

### Obtención de cepas STEC a partir de las muestras:

A partir del caldo TSB correspondiente a cada una de las 100 muestras, se realizaron siembras en SMAC (Agar Sorbitol MacConkey, Oxoid). *E.coli* O157 normalmente no fermenta

**Tabla 1.** Cebadores empleados en la prueba de PCR para la detección de genes en muestras y en cepas.

Gen	Cebador	Secuencia (5' → 3')	Tamaño (pb)	Referencia
<i>stx1</i>	VT1a	GAAGAGTCCGTGGGATTACG	130	(10)
	VT1b	AGCGATGCAGCTATTAATAA		
<i>stx2</i>	SLTII1	CTTCGGTATCCTATTCCCGG	448	(11)
	SLTII2	GGATGCATCTCTGGTCATTG		
<i>eae</i>	SK1	CCCGAATTCGGCACAAGCATAAGC	881	(12)
	SK2	CCCGGATCCGTCTCGCCAGTATTCG		
<i>hlyA</i>	HlyA-a	AGCTGCAAGTGCGGGTCTG	569	(13)
	HlyA-b	TACGGGTTATGCCTGCAAGTTCAC		

el sorbitol, por lo que produce colonias incoloras, mientras que otras *E. coli* no-O157:H7 generalmente si fermentan el sorbitol, por lo que darán lugar a colonias de color rosa. Se observaron estas placas tras su incubación a 37°C durante 24 horas. Se confirmaron las colonias rosas e incoloras por PCR para la detección de *stx*s, 176 cepas en total. Las muestras que fueron negativas por PCR a partir del SMAC fueron inoculadas en el CHROMagar™ STEC; el aspecto de las colonias STEC en este medio de cultivo es violeta, las cepas STEC O157 son no fluorescentes y las STEC no-O157 evidencian fluorescencia variable.

#### *Detección de genes de virulencia en cepas STEC mediante PCR:*

Las colonias típicas obtenidas en SMAC y CHROMagar STEC se sometieron a pruebas de PCR buscando de forma separada los genes que codifican para las toxinas Shiga (*stx1* y *stx2*), el gen que codifica para la intimina (*eae*) y el gen que codifica para la enterohemolisina (*hlyA*) (Tabla 1). Se trabajó con las concentraciones de reactivos, equipos para la amplificación, ciclo de amplificación y visualización descritos en las muestras.

#### *Identificación del serogrupo en cepas STEC:*

Las cepas STEC se sometieron a dos pruebas de aglutinación con partículas de látex:

- Dryspot *E. coli* O157 test (Oxoid): prueba para la identificación de *E. coli* O157.
- Dryspot *E. coli* Seroscreen (Oxoid): prueba para la detección de seis serogrupos de *E. coli* no-O157: O26, O91, O103, O111, O128 y O145.

En ambos casos se utilizaron partículas azules de látex sensibilizadas con anticuerpos específicos de conejo reactivos frente al antígeno somático correspondiente, siguiendo las indicaciones del fabricante en cada caso.

#### *Patrón de Resistencia-Susceptibilidad antibiótica de las cepas STEC:*

A partir de las cepas STEC aisladas, se tomaron al azar cinco de ellas con el fin de realizar la prueba de antibiograma aplicando el método de difusión en agar de acuerdo con los lineamientos del EUCAST (14).

Los antibióticos ensayados fueron: Ampicilina 10 µg (AMP);

Estreptomocina 10 µg (S); Cefalotina 30 µg (KF); Ácido Nalidíxico 30 µg (NA); Cefotaxima 5 µg (CTX); Tetraciclina 30 µg (TE); Amoxicilina – Ácido Clavulánico 30 µg (AMC); Trimetoprim - Sulfametoxazol 25 µg (SXT); Gentamicina 10 µg (CN); Ciprofloxacina 5 µg (CIP); Cloranfenicol 30 µg (C); Cefoxitina 30 µg (FOX); Cefepima 30 µg (FEP); Cefaclor 30 µg (CEC); Ticarcilina 75 µg (TIC); Ceftazidima 30 µg (CAZ); Aztreonam 30 µg (ATM); Piperaciclina 30 µg (PRL); Cefuroxima 30 µg (CXM); Imipenem 10 µg (IPM).

#### **Resultados:**

En la tabla 2, se describen los perfiles de virulencia detectados en las muestras y en las cepas aisladas de las mismas. En el 22% de las muestras no se observaron amplificadas para las toxinas buscadas. Se encontró una importante prevalencia del gen *stx2* en las muestras, a pesar de esto, sólo a partir del 13% de las mismas fue posible detectar cepas *stx*s positivas (Tabla 3). Adicionalmente, en el 84.6% de estas cepas se detectó el gen que codifica para la enterohemolisina (*hlyA*). No se reveló la presencia del *eae* en las cepas aisladas a partir de las muestras.

En la figura 1 se muestran los amplificados obtenidos de las muestras y las cepas aisladas en este estudio. La detección de los genes *stx1* y *stx2* se realizó mediante PCR múltiple. Partiendo de 176 cepas sospechosas, se encontró una prevalencia de STEC del 7.4%; 4.55 % de ellas fueron obtenidas mediante la utilización del CHROMagar STEC, las cuales revelaron el genotipo *stx1* +, *stx2* +, *hlyA* +; en el medio de cultivo Sorbitol MacConkey se aislaron 2.85% de las cepas, que evidenciaron la presencia del *stx2* o del genotipo *stx2* +, *hlyA* +; El gen *stx1* de forma única fue el menos prevalente tanto en muestras como en cepas.

La figura 2 describe los resultados obtenidos para la prueba de resistencia-susceptibilidad antibiótica. Se evidencia que, de acuerdo con los criterios de interpretación estipulados por el EUCAST (15) y CLSI (16), las cinco cepas ensayadas tuvieron

**Tabla 2.** Contenido de humedad del aislado proteico de chachafruto.

Perfil de Virulencia	Número de muestras		Número de cepas SMAC (%)		Número de cepas CHROMagar (%)	
	Porcionada	Molida	Porcionada	Molida	Porcionada	Molida
<i>stx1</i>	0	1	0	0	0	0
<i>stx2</i>	6	33	0	2 (1.14)	0	0
<i>stx1 + stx2</i>	7	31	0	0	0	0
<i>stx2 + hlyA</i>	NE <sup>a</sup>	NE <sup>a</sup>	1(0.57)	2 (1.14)	0	0
<i>stx1 + stx2 + hlyA</i>	NE <sup>a</sup>	NE <sup>a</sup>	0	0	1(0.57)	7(3.98)
<i>eae</i>	NE <sup>a</sup>	NE <sup>a</sup>	0	0	0	0

<sup>a</sup>: NE: La presencia de los genes *hlyA* y *eae* no fue examinada en las muestras.

el mismo patrón de resistencia-susceptibilidad antibiótica, siendo resistentes frente a Cefalotina, Ampicilina, Amoxicilina – Ácido Clavulánico, Cefuroxima, Ticarcilina y Piperaciclina.

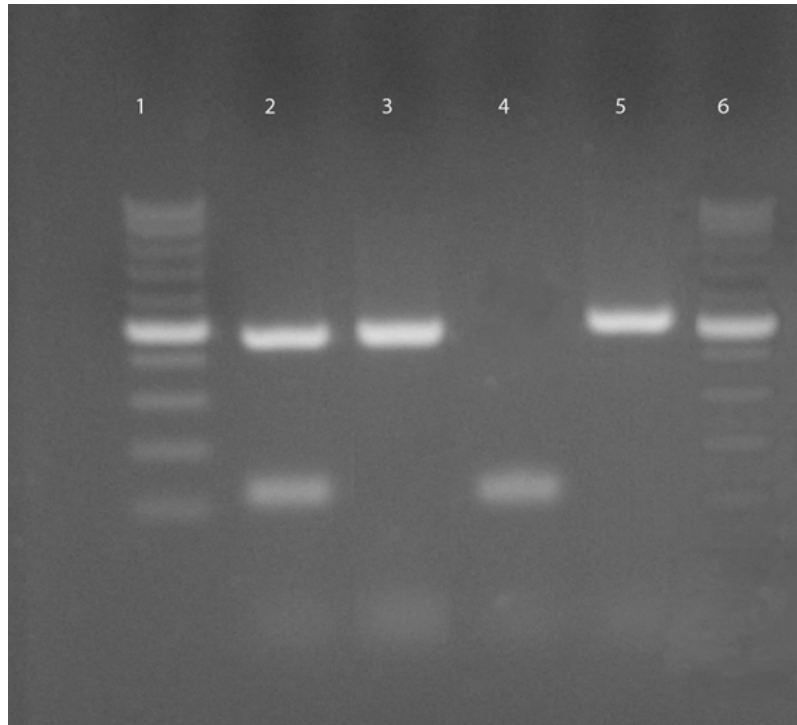
En la tabla 3 se puede apreciar la comparación

entre las características fenotípicas y genotípicas de las cinco cepas STEC seleccionadas al azar; se evidencia su uniformidad fenotípica incluso en el patrón de resistencia antibiótica, todas fueron *stx2* positivas, *eae* negativas y sólo una fue *hlyA* negativa.

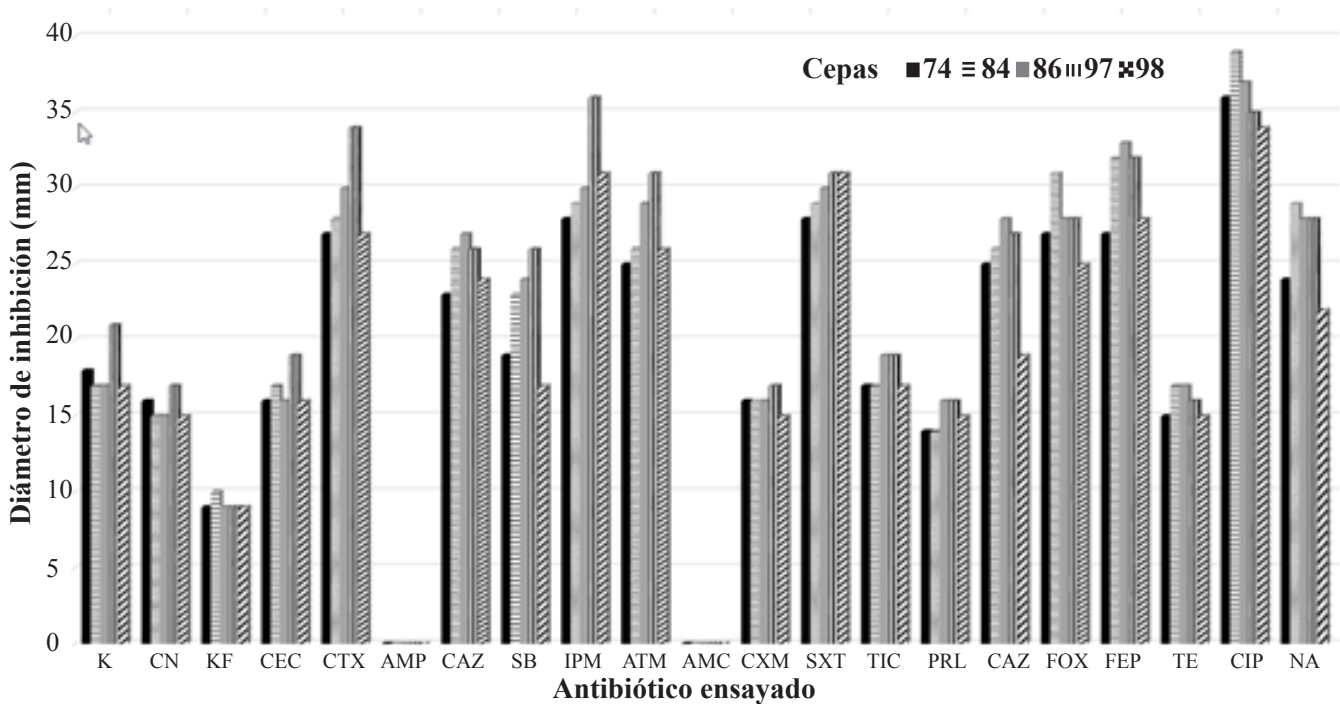
**Tabla 3.** Características fenotípicas y genotípicas de cepas STEC seleccionadas

CEPA	Aspecto en SMAC	CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS				CARACTERÍSTICAS GENOTÍPICAS			
		Aspecto en CHROM agar	Dryspot <i>E. coli</i> O157	Dryspot <i>E. coli</i> Seroscreen	RESISTENCIA ANTIBIÓTICA	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>hlyA</i>	<i>eae</i>
74	Rosa	Violeta fluorescente	NEG	NEG	KF, AMP, AMC, CXM, TIC, PRL	NEG	POS <sup>2</sup>	POS	NEG
84	Rosa	Violeta fluorescente	NEG	NEG	KF, AMP, AMC, CXM, TIC, PRL	NEG	POS	POS	NEG
86	Rosa	Violeta fluorescente	NEG	NEG	KF, AMP, AMC, CXM, TIC, PRL	NEG	POS	POS	NEG
97	Rosa	Violeta fluorescente	NEG	NEG	KF, AMP, AMC, CXM, TIC, PRL	NEG	POS	NEG	NEG
98	Rosa	Violeta fluorescente	NEG	NEG	KF, AMP, AMC, CXM, TIC, PRL	NEG	POS	POS	NEG

<sup>1</sup>: Negativo; <sup>2</sup>: Positivo



**Figura 1.** Ejemplos de amplificados obtenidos en muestras y cepas aisladas a partir de las muestras. Líneas: 1 y 6: patrón de peso molecular de 100 pb. 2: Muestra *stx1* y *stx2* positivo. 3: Cepa *stx2* positivo. 4: Muestra *stx1* positivo. 5: Cepa *hlyA* positivo.



**Figura 2.** Resultados de la prueba de resistencia-susceptibilidad antibiótica de cepas STEC

## Discusión

La alta prevalencia del gen *stx2* detectada en este estudio se relaciona con los resultados obtenidos en estudios similares realizados en Sur América (6, 17, 18). La importancia clínica de las cepas *stx2+* es superior tanto a la de las cepas *stx1+* y a la de las cepas *stx1+/stx2+*, ya que la probabilidad de que las primeras puedan inducir la aparición del síndrome SUH es más alta (19). Se detectó alta frecuencia del genotipo *stx1+stx2* en las muestras y en las cepas, lo que puede tener una implicación sanitaria adicional debido a que los genes que codifican las toxinas Shiga se encuentran localizados en el genoma de bacteriófagos lamboides denominados fagos-Stx, elementos genéticos altamente móviles que pueden infectar bacterias comensales del intestino, haciendo que puedan producir Stxs y por tanto agravando la enfermedad. Otra característica importante de los fagos-Stx es su estabilidad en el ambiente durante largos periodos de tiempo y pueden como ya se ha dicho, insertarse en bacterias convirtiéndolas en productoras de toxinas Stxs (20).

La reducida recuperación de cepas STEC a partir de las muestras analizadas puede atribuirse a varias razones como son: la presencia de un número muy pequeño de células STEC en las mismas que no lograron detectarse en ninguno de los medios de cultivo ensayados; la mayoritaria presencia de fagos portando *stxs* en las muestras de carne y/o a la existencia de una elevada microbiota acompañante que pudo haber inhibido su crecimiento (21).

Se encontró, en un importante porcentaje de cepas STEC, el gen que codifica para la enterohemolisina (*hlyA*), lo cual, concuerda con los resultados de otros autores (17, 18, 22). La enterohemolisina es una  $\alpha$ -hemolisina que contribuye al desarrollo de la enfermedad, favoreciendo la liberación de hierro para la realización de las reacciones metabólicas bacterianas; además, puede alterar la membrana de diferentes células del huésped e inducir la producción de citoquinas pro-inflamatorias (2).

El gen *eae* codifica para la intimina, una proteína de membrana externa que contribuye en el borrado

de los enterocitos y a la formación de un pedestal en la membrana de los mismos, permitiendo la adhesión íntima de la bacteria a la célula (1). La no detección de este gen en las cepas concuerda con otros estudios realizados en Latinoamérica en cepas STEC no-O157 obtenidas de muestras de diferentes alimentos y ambientes (6, 17, 18). El hecho de no detectar la presencia del gen *eae* en las cepas no las hace inofensivas para el ser humano, ya que se han encontrado serotipos productores de *stxs* que son *eae* negativos y han sido implicados en diarrea, SUH y en brotes de ETAs (21, 23); de hecho, el brote de ETAs más importante ocurrido en Alemania en el 2011 fue por una cepa STEC *eae* negativa que ocasionó 4,321 casos confirmados, 852 casos de SUH y 54 muertes (23).

Se pudo evidenciar la alta especificidad y selectividad del medio de cultivo cromogénico para la detección de las cepas STEC. Está demostrado que el telurito de potasio presente en el suplemento del Sorbitol MacConkey puede inhibir el crecimiento de STEC no-O157, razón por la cual resulta más conveniente el empleo del CHROMagar, que tiene la ventaja adicional de permitir diferenciar la presencia de *E. coli* O157 de las no-O157 por la no fluorescencia que no emiten las primeras (24), lo que se comprobó en este trabajo.

Al realizar la prueba de aglutinación a cada una de las cepas STEC empleando el Dryspot *E. coli* O157 y el Dryspot Seroscreen (Oxoid), ninguna arrojó resultados positivos, lo que puso en evidencia que no se correspondían a los serogrupos O157, O26, O91, O103, O111, O128 ni O145; resultados similares fueron obtenidos en cepas STEC aisladas a partir de muestras de carne molida en Chile (18).

El serogrupo STEC O157 tradicionalmente se ha vinculado con enfermedades en el ser humano, sin embargo se han reportado más de 400 serogrupos STEC que igualmente producen enfermedad, entre ellos los serogrupos pertenecientes al grupo referido como “el gran 6” (O111, O26, O121, O103, O145 y O45) que son los principales serogrupos no-O157 aislados de infecciones clínicas humanas en los EEUU (21). La nula o baja detección del serogrupo O157 se relaciona con otros estudios en diferentes muestras de alimentos en Colombia y Chile (5, 6, 7, 18). En Argentina y Brasil, se ha reportado mayor frecuencia de STEC no-O157 en diferentes muestras de origen bovino (22, 25). Adicionalmente, Islam et al 2014, analizando datos del 1980-2012, reportan una prevalencia en Latinoamérica

de *E. coli* O157 en ganado bovino del 1.65% (26). Estos resultados sugieren la reducida incidencia de cepas STEC O157 en alimentos de origen animal en la región. A pesar de esto, Franco *et al* 2013, detectaron el serotipo O157:H7 en el 28% en muestras de carne de cerdo provenientes de Cartagena-Colombia (27).

Las cepas aisladas en este trabajo, revelaron ser homogéneas fenotípicamente, razón por la cual se seleccionaron al azar cinco de ellas para la prueba de antibiograma. La resistencia a la ampicilina detectada se relaciona con la obtenida en cepas no-O157 aisladas de humanos (9). De otra parte, cepas ECTS no O157 aisladas a partir de heces animales evidenciaron similar resistencia a la cefalotina (8).

Se encontró una alta prevalencia de STEC no-O157 en muestras de carne cruda de origen bovino comercializadas en Pamplona-Colombia; las cepas aisladas presentaron, además, el gen que codifica para la enterohemolisina; sin embargo, no pertenecían a serogrupos identificables. Esto sugiere que en el medio ambiente de explotaciones ganaderas podrían estar circulando STEC no conocidos y de los cuales se ignora su efecto para la salud del ser humano.

La ausencia del serogrupo O157 en las cepas aisladas a partir de las muestras no asegura la inocuidad de las mismas, ya que se detectaron STEC portadores de factores de virulencia implicadas en enfermedad en el hombre, aunque demostraron resistencia únicamente frente a algunos antibióticos de primera y segunda generación.

La gran mayoría de las cepas STEC aisladas en América del Sur a partir de ganado bovino y sus derivados son no O157 con un perfil de virulencia *stx2* + *hlyA* y son *eae* negativas.

Este es el primer reporte de STEC no-O157 que codifican el gen para la enterohemolisina en alimentos en Colombia.

### Agradecimientos

Fanny Herrera Arias agradece la estancia concedida por el Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Básicas de la Universidad de Pamplona, Colombia, para llevar a cabo los ensayos de PCR en el Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria- Universidad de León, España.

### Referencias

1. Kaper J, Nataro J, Mobley H. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*. 2004; 2: 123-140.
2. Gyles C. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *J Anim Sci*. 2007; 85: E45-E62.
3. Dewey-Mattia D, Manikonda K, Hall A, Wise M, Crowe S. Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks - United States, 2009-2015. *MMWR Surveill Summ*. 2018; 67(10):1-11. doi: 10.15585/mmwr.ss6710a1.
4. Mattar S, Vásquez E. *Escherichia coli* O157:H7 Infection in Colombia. *Emerg Infect Dis*. 1998; 4(1):126-127.
5. Martínez A, Bossio C, Durango A, Vanegas M. Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from foods. *J Food Prot*. 2007; 70(12):2843-6.
6. Rúgeles I, Bai J, Martínez A, Vanegas M, Gómez-Duarte O. Molecular characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* strains from stools samples and food products in Colombia. *Int J Food Microbiol*. 2010; 138(3): 282-286.
7. Amézquita-Montes Z, Tamborski M, Kopsombut U, Zhang C, Arzuza O, Gómez-Duarte O. Genetic Relatedness Among *Escherichia coli* Pathotypes Isolated from Food Products for Human Consumption in Cartagena, Colombia. *Foodborne Pathog Dis*. 2015; 12(5):454-461.
8. Mahanti A, Samanta I, Bandopaddhay S, Joardar S, Dutta T, Batabyal S, *et al*. Isolation, molecular characterization and antibiotic resistance of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) from buffalo in India. *Lett Appl Microbiol*. 2013; 56(4):291-8.
9. Day M, Doumith M, Jenkins C, Dallman TJ, Hopkins KL, Elson R, *et al*. Antimicrobial resistance in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroups O157 and O26 isolated from human cases of diarrhoeal disease in England, 2015. *J Antimicrob Chemother*. 2017; 72(1):145-152.
10. Pollard D, Johnson W, Lior H, Tyler S, Rozee K. Rapid and specific detection of Verotoxin genes in *Escherichia coli* by the Polymerase Chain Reaction. *J Clin Microbiol*. 1990; 28 (3): 540-545.
11. Olsen J, Aabo S, Hill W, Notermans S, Wernars K, Granum P, *et al*. Probes and polymerase chain reaction for detection of food-borne bacterial pathogens. *Int J Food Microbiol* 1995; 28 (1): 1-78.
12. Oswald E, Schmidt H, Morabito S, Karch H, Marchès O, Caprioli A. Typing of intimin genes in human and animal Enterohemorrhagic and Enteropathogenic *Escherichia coli*: characterization of a new intimin variant. *Infect Immun*. 2000; 68 (1): 64-71.

13. Wang G, Clark C, Rodgers F. Detection in *Escherichia coli* of the genes encoding the major virulence factors, the genes defining the O157:H7 serotype, and components of the type 2 Shiga toxin family by multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* 2002; 40 (10): 3613-3619.
14. EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial susceptibility testing EUCAST disk diffusion method [Internet]. Version 7.0. Editors European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases; 2019. [actualizado Enero 2019; citado 26 Junio de 2019]. Disponible en: [http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Disk\\_test\\_documents/2019\\_manuals/Manual\\_v\\_7.0\\_EUCAST\\_Disk\\_Test\\_2019.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/2019_manuals/Manual_v_7.0_EUCAST_Disk_Test_2019.pdf).
15. EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. [Internet]. Version 9.0. Editors European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases; 2019. [actualizado 1 de Enero 2019; citado 26 Junio de 2019]. Disponible en: [http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Breakpoint\\_tables/v\\_9](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_9)
16. CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. [Internet]. 26th Edition. Editors Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016. [actualizado 1 de Enero 2019; citado 26 Junio de 2019] Disponible en: <http://jzxc.cqrmhospital.com/upfiles/201601/20160112155335884.pdf>
17. Brusa V, Aliverti V, Aliverti F, Ortega E, de la Torre J, Linares L, et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef retail markets from Argentina. *Front Cell Infect Microbiol.* 2013; 171(2):1-6. doi: 10.3389/fcimb.2012.00171
18. Toro M, Rivera D, Jiménez M, Díaz L, Navarrete P, Reyes-Jara A. Isolation and characterization of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolated from retail ground beef in Santiago, Chile. *Food Microbiol.* 2018; 75:55-60. doi: 10.1016/j.fm.2017.10.015.
19. Farrokh C, Jordan K, Auvray F, Glass K, Oppegaard H, Raynaud S, et al. Review of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and their significance in dairy production. *Int J Food Microbiol.* 2013; 162 (2): 190-212.
20. Bergan J, Dye Lingelem AB, Simm R, Skotland T, Sandvig K. Shiga toxins. *Toxicon.* 2012; 60 (6): 1085-1107.
21. Hoang Minh S, Kimura E, Hoang Minh D, Honjoh K, Miyamoto T. Virulence characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from raw meats and clinical samples. *Microbiol Immunol.* 2015; 59 (3): 114–22. doi: 10.1111/1348-0421.12235
22. Llorente P, Barnech L, Irino K, Rumi M, Bentancor A. Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from ground beef collected in different socioeconomic strata markets in Buenos Aires, Argentina. *Biomed Res Int.* 2014; ID 795104. doi: 10.1155/2014/795104
23. Newton H, Sloan J, Bulach D, Seemann T, Allison C, Tauschek M, Robins-Browne R, Paton J, Whittam T, Paton A, Hartland E. Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* Strains Negative for Locus of Enterocyte Effacement. *Emerg Infect Dis.* 2009; 15(3): 372–380. doi: 10.3201/eid1502.080631
24. Verhaegen B, De Reu K, Heyndrickx M, De Zutter L. Comparison of Six Chromogenic Agar Media for the Isolation of a Broad Variety of Non-O157 Shigatoxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) Serogroups. *Int J Environ Res Public Health.* 2015; 12 (6): 6965-6978.
25. Irino K, Kato MA, Vaz TM, Ramos II, Souza MA, Cruz AS, et al. Serotypes and virulence markers of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolated from dairy cattle in Sao Paulo State, Brazil. *Vet Microbiol.* 2005; 105 (1): 29-36.
26. Islam MZ, Musekiwa A, Islam K, Ahmed S, Chowdhury S, Ahad A, et al. Regional Variation in the Prevalence of *E. coli* O157 in Cattle: A Meta-Analysis and Meta-Regression. *PLoS One.* 2014; 9(4): e93299.
27. Franco P, Ramírez L, Orozco M, López L. Determinación de *Escherichia coli* e identificación del serotipo O157:H7 en carne de cerdo comercializada en los principales supermercados de la ciudad de Cartagena. *Rev Lasallista Investig.* 2013; 10 (1): 91-100.

Recibido: 28/01/2019  
Aceptado: 21/06/2019

# Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Volumen 69. N° 1, Septiembre 2019

Contenido

Páginas

## Editorial

*Rafael Figueredo Grijalba*..... 1

## Efectos de la incorporación de la *Moringa oleifera* en las bebidas de frutas sobre parámetros clínicos que miden la deficiencia de hierro y anemia en niños

*Karen Piedad Martínez Marciales, Javier Andrés Soto, Jhoalmis Sierra Castrillo, Jonathan Gonzalo Olivieri Moncada, Jaizul Carolina Galeano Arias, Lyz Jenny Gómez Rave*..... 2

## Perfil de consumo y costo de bebidas habituales y recomendadas en México, 2012-2018.

*Alfonso Mendoza-Velázquez, Ana Elena Pérez-Gómez*..... 12

## Obtención de productos proteicos bajos en fenilalanina a partir de suero dulce de leche y chachafruto (*Erythrina edulis* Triana)

*Franklin Villafuerte, Elevelina Pérez, Antonieta Mahfoud, Yolmar Valero, Amaury Pérez Martínez*..... 25

## Efecto del consumo de alimentos con elevado contenido lipídico sobre el perfil lipídico de ratones sanos

*Miguel A. Campuzano-Bublitz, Elena M. Araujo, Rebeca P. Peralta, Rodrigo Burgos, Carmen M. Coronel; María L. Kennedy*..... 34

## Detección de gluten en alimentos etiquetados como libres de gluten disponibles en el mercado costarricense

*Jessie Usaga, Jacqueline Aiello*..... 42

## Diferencias por género en las prácticas de lactancia materna y alimentación complementaria en lactantes de 15 a 24 meses de la zona metropolitana de Guadalajara, México

*Lilia Perales-Huerta, Citlalli Álvarez-Zaragoza, Edgar M. Vásquez-Garibay, Alfredo Larrosa-Haro, Enrique Romero-Velarde, Raúl Cervantes-Medina*..... 50

## Primer reporte de *Escherichia coli* Productora de Toxina Shiga no O157 que codifica el gen de la enterohemolisina en carne cruda en Colombia

*Fanny Herrera Arias, Jesús Santos Buelga, Raquel Villamizar Gallardo*..... 59