

# MÉTODOS Y TÉCNICAS DE LABORATORIO APLICADAS EN EL ESTUDIO DE LA INMUNONUTRICIÓN

## Ligia Esperanza Díaz



Licenciada en Microbiología y Laboratorio Clínico por la Universidad, Colegio Mayor de Cundinamarca, Colombia (1992). Magíster en Enfermedades Parasitarias Tropicales, por la Universidad de Valencia. Magíster en Dietética y Nutrición, Universidad de Cádiz y Doctor en Farmacia por la Universidad Complutense de Madrid (2006). Se incorporó en el año 1999 al Grupo Inmunonutrición liderado por la Prof. Ascensión Marcos, en el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), de Madrid, España. Sus líneas de investigación comprenden el estudio del estado nutricional y su relación con determinantes de

la salud, en especial con biomarcadores inmunológicos, estudio nutricional en poblaciones con riesgo de malnutrición y trastornos del comportamiento alimentario y la capacidad inmunomoduladora de componentes bioactivos.

## Resumen

La velocidad en el avance de las nuevas tecnologías hace que exista una imperiosa necesidad de conocer y ampliar los conocimientos sobre los nuevos métodos y técnicas que se aplican al estudio tanto de diferentes grupos celulares, así como diversos marcadores biológicos solubles que son parte de la respuesta inmunológica. En esta parte del curso abordaremos diferentes metodologías aplicadas al estudio de la inmunonutrición conociendo su fundamento y aplicabilidad, destacando la importancia del uso de protocolos normalizados de trabajo, las normas de calidad, seguridad y de protección.

Diversas técnicas actuales de laboratorio permiten el análisis de numerosos biomarcadores, en menores volúmenes de muestra, con una mayor sensibilidad y especificidad, lo que permite la búsqueda de objetivos de seguimiento con una alta eficacia, con un menor tiempo de análisis, en un mínimo volumen de muestra.

Desde la cuantificación y detección de anticuerpos o antígenos específicos mediante interacciones antígeno-anticuerpo, la detección, identificación y cuantificación de células inmunocompetentes, la evaluación de la capacidad fagocítica y de microbicida de los fagocitos, pruebas de estimulación linfocítica a mitógenos y a antígenos específicos, así como la cuantificación

de la concentración de componente individuales como parte de la valoración del estado nutricional hasta la valoración nutricional a través de la dieta así como el análisis de la composición corporal y el estudio de la actividad física, son todos compartimentos aislados de un todo que es el estudio de la inmunonutrición.

Finalmente, la elección de las diversas metodologías que harán parte de nuestra investigación en ésta área, serán de gran importancia para unos resultados fiables y de alta reproducibilidad; sin embargo, la incorporación de algunas de estas técnicas resultará costoso, no sólo desde el punto de vista de adquisición de los reactivos, sino también del mantenimiento e infraestructura.



Real Academia  
Nacional de  
Farmacia

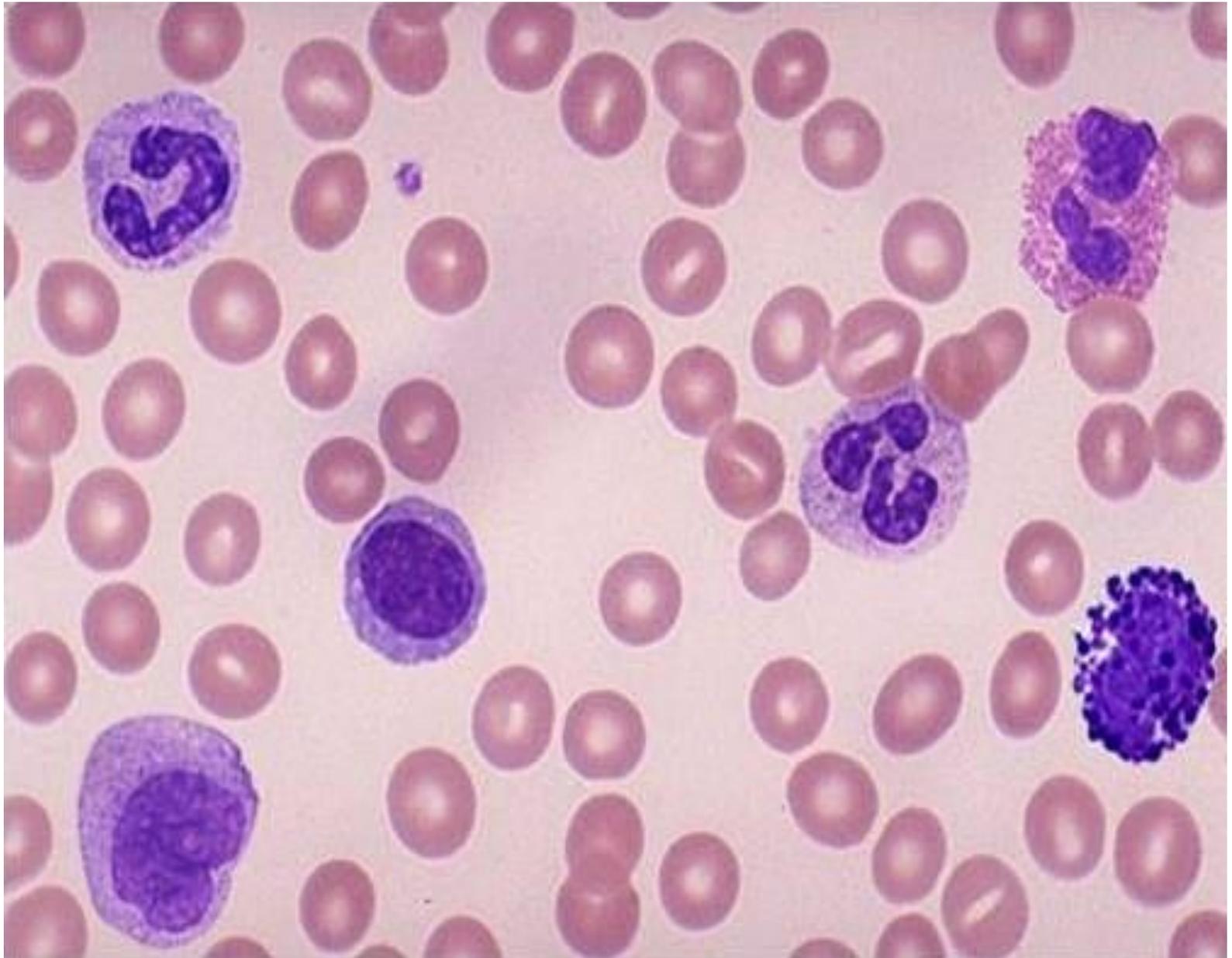


II CURSO AVANZADO SOBRE  
INMUNONUTRICIÓN

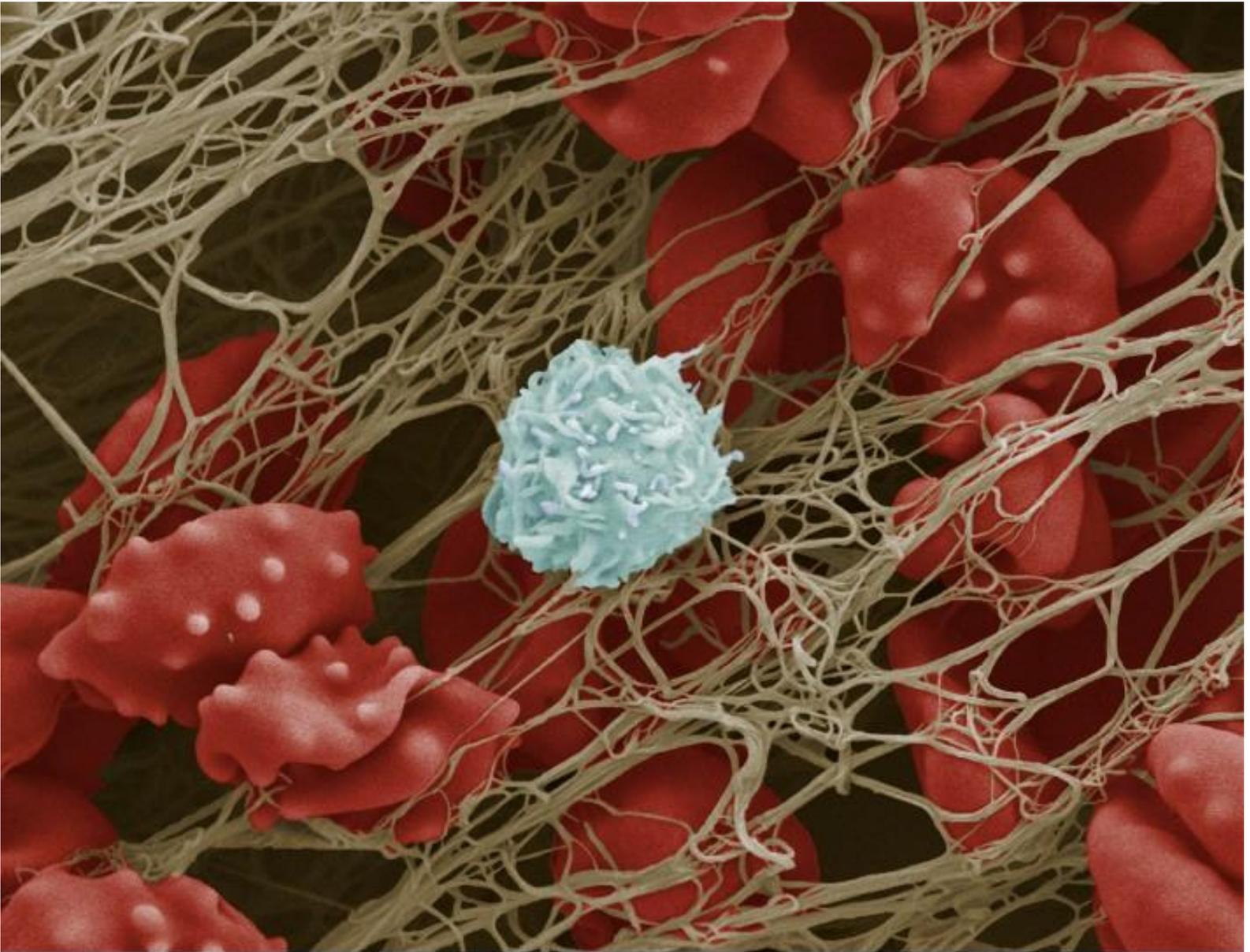
# MÉTODOS Y TÉCNICAS DE LABORATORIO APLICADAS EN EL ESTUDIO DE LA INMUNONUTRICIÓN

**Ligia Esperanza Díaz Prieto**

Grupo Inmunonutrición. Departamento de Metabolismo y Nutrición. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN). Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)



El frotis de sangre periférica teñido con un colorante ácido-básico (Wright) permite identificar a través del microscopio convencional 100x.



Microscópio electrónico de barrido (elementos entre 1 y 5 nanómetros nm) imágenes coloreadas.

ELISA

Inmunolectroforesis

AGLUTINACIÓN

Precipitación

Ac. Monoclonales

Proliferación *in vitro*

**INMUNONUTRICIÓN**

NUTRIENTES

ALIMENTOS

Inmunodifusión

Inmunoenzimáticas

Nefelometría

ConA

**RADIOINMUNOANÁLISIS**

FLUORESCENCIA

Rodamina

Turbidimetría

ESTADO  
NUTRICIONAL

LPS

NARANJA DE ACRIDINA

# MÉDULA ÓSEA

Células madre pluripotenciales

LINEA

MIELOIDE

LINEA

MIELOIDE

TIMO  
LINFOCITOS T

Plasma celular

BAZO  
LINFOCITOS B

Respuesta humoral

Monocitos, macrófagos, granulocitos, células kupffer

Inmunidad inespecífica

Linfocitos CD4

colaboradores

Linfocitos T CD8

citotóxicos

Linfocitos CD19

Inmunoglobulinas

**OBJETIVO**

# INMUNIDAD INESPECÍFICA

## BARRERAS FÍSICAS Y QUÍMICAS

Enzimas hidrolíticas,  
pH estómago, Enz.  
Proteolíticas

Aparto mucociliar,  
Macrófagos  
pulmonares

pH ácido  
(lactobacilos)

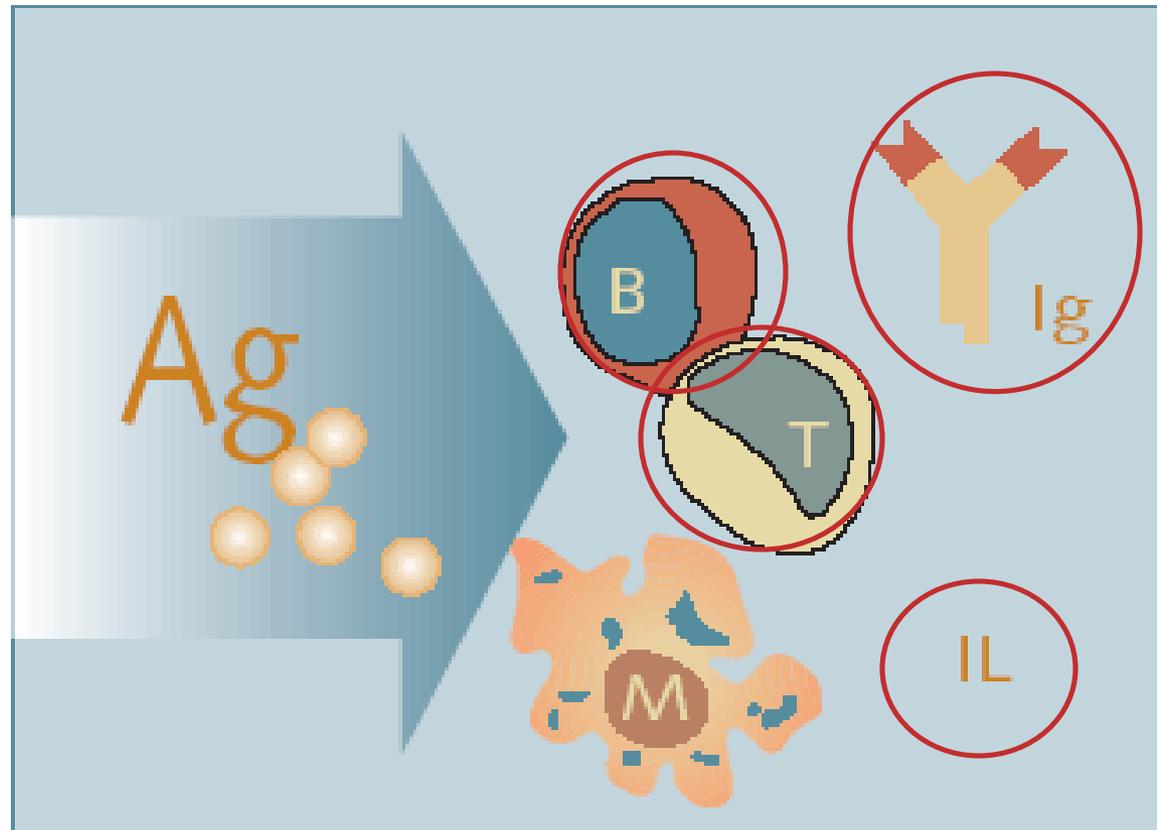
## FAGOCITOSIS

Monocitos, PMN,  
Factores del  
complemento: C3,  
C4

## PROTEINAS SANGUÍNEAS- INFLAMACIÓN

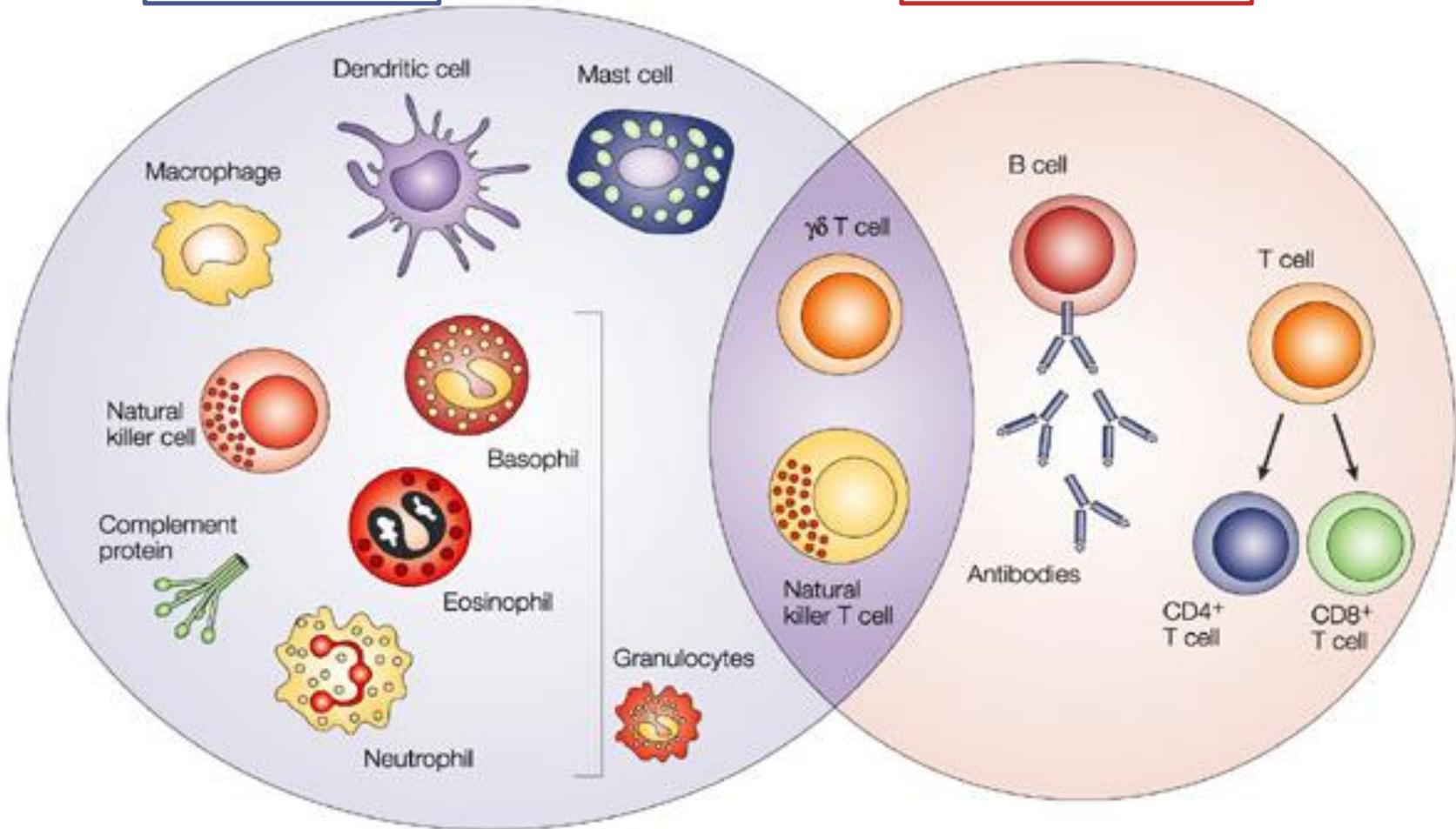
Ceruloplasmina,  
PCR, albumina,  
cortisol.

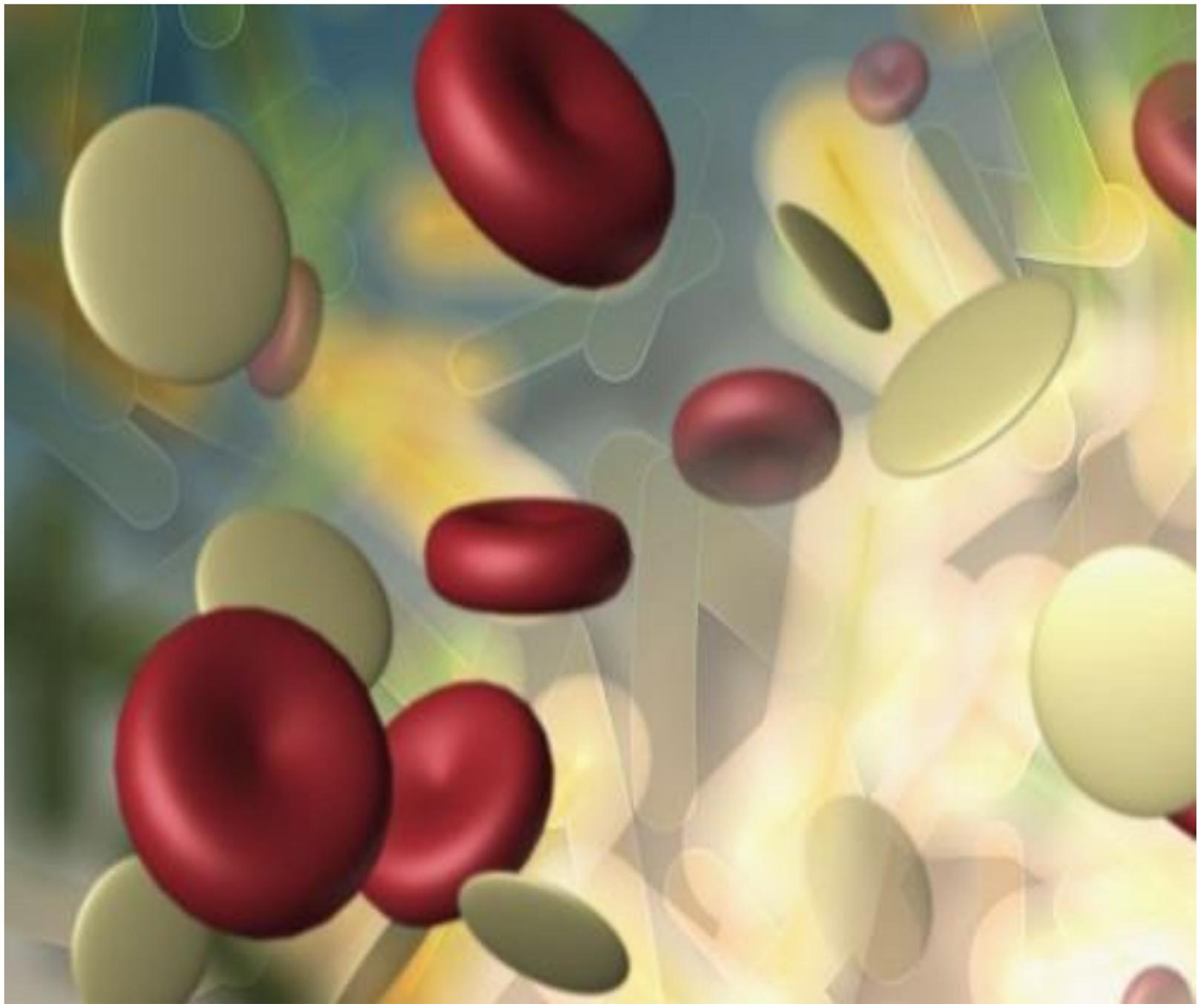
# INMUNIDAD ESPECÍFICA



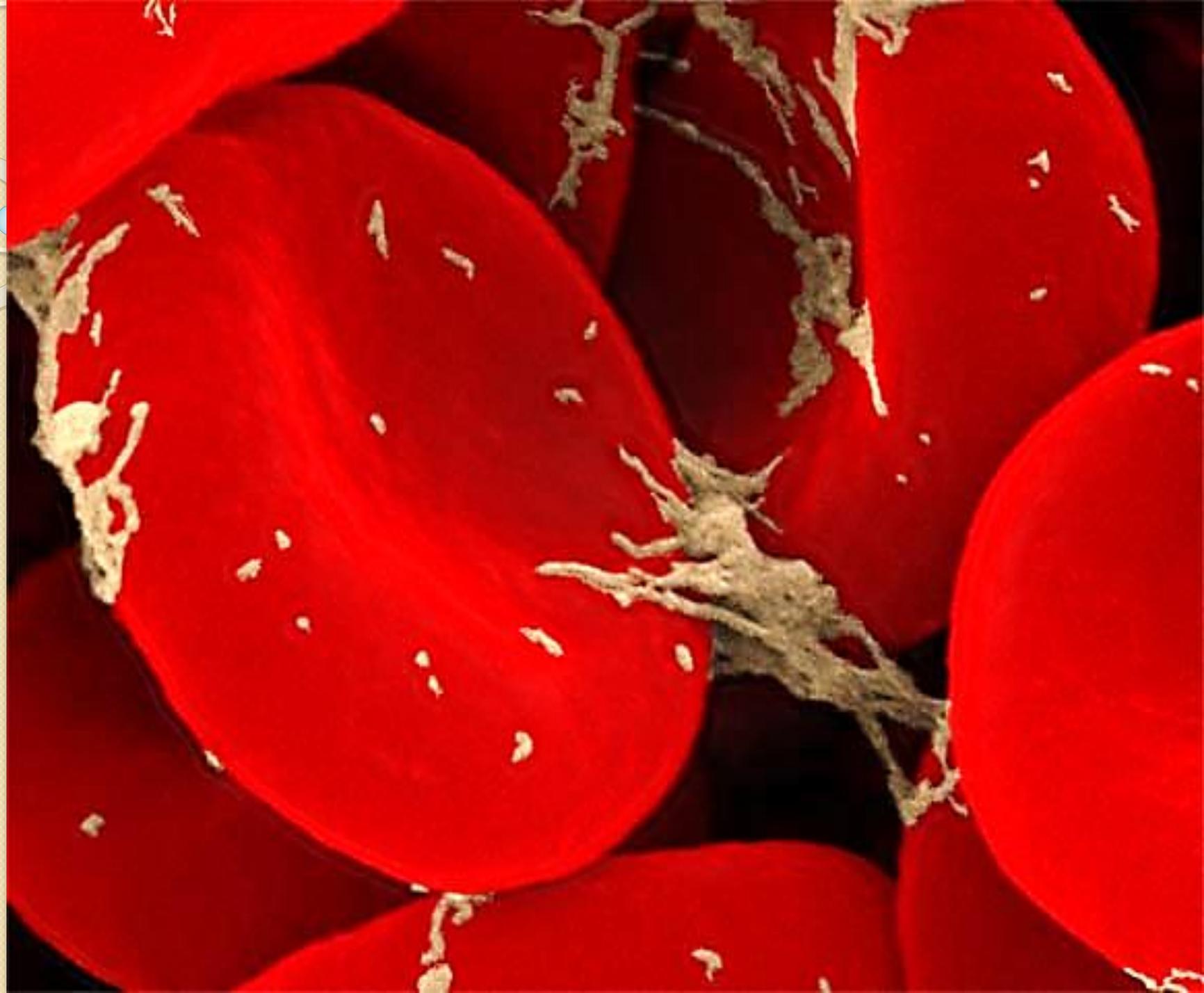
**INMUNIDAD  
INNATA/  
INESPECÍFICA**  
(Respuesta rápida)

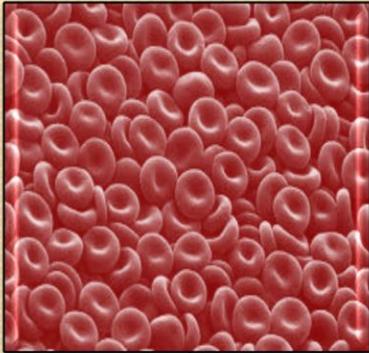
**INMUNIDAD  
ADAPTATIVA/  
ESPECÍFICA**  
(Respuesta lenta)





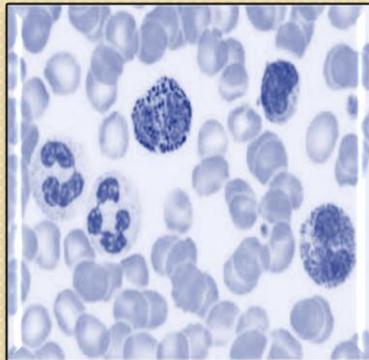
# HEMOGRAMMA





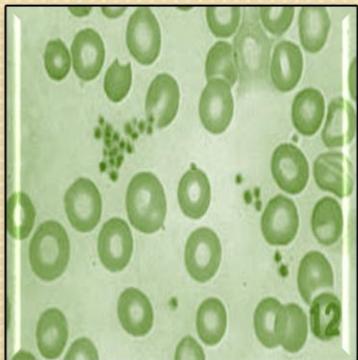
## **HEMATIES**

**Hb, Hto, VCM, HCM, CHCM**



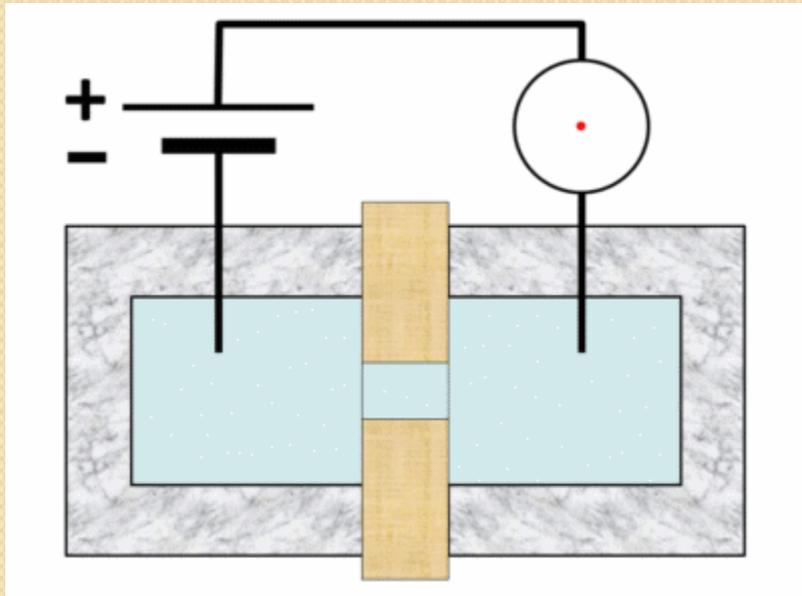
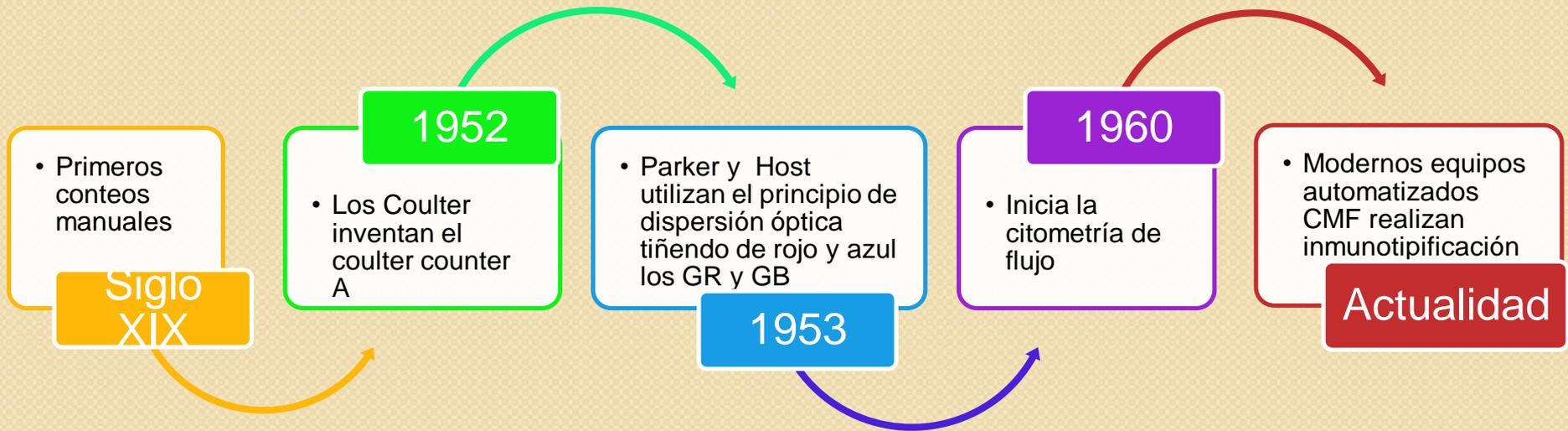
## **LEUCOCITOS**

**Recuento diferencial**

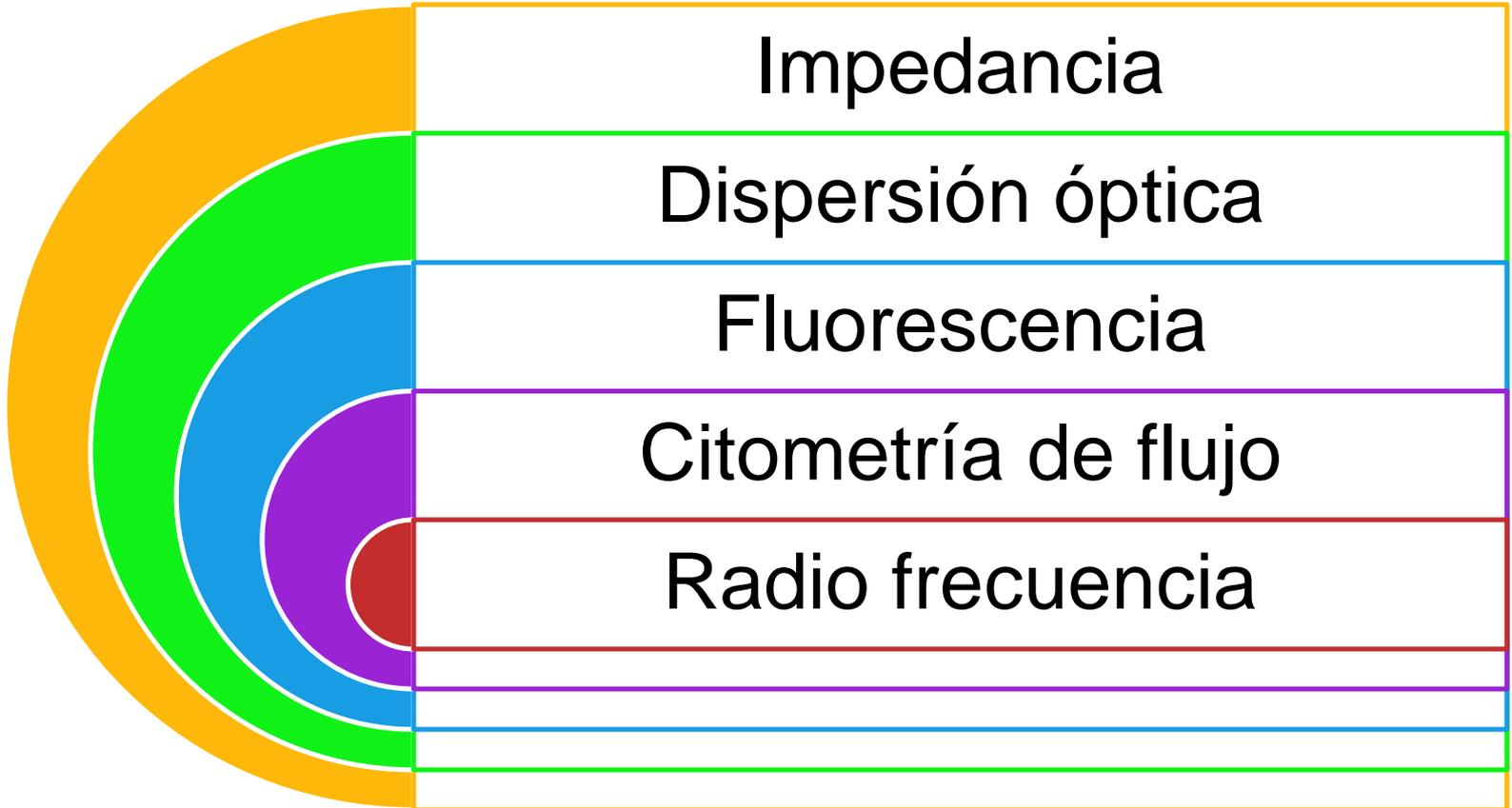


## **PLAQUETAS**

**Plaquetocrito, VPM**



# PRINCIPIOS

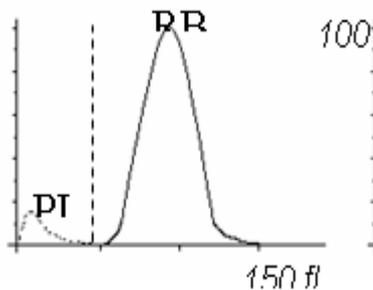


# LINEAS CELULARES

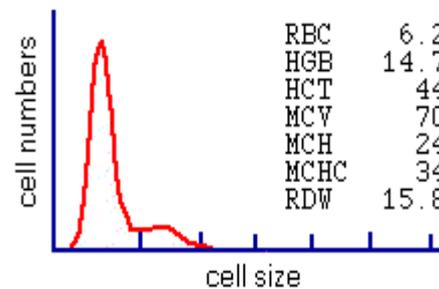
## HEMOGRAMA



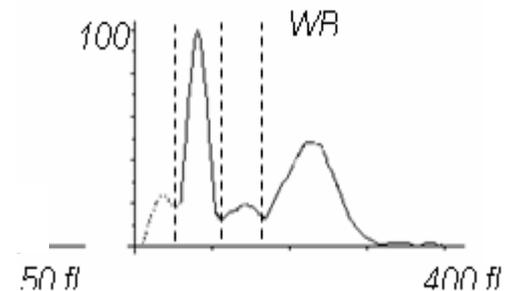
**Plaquetas**



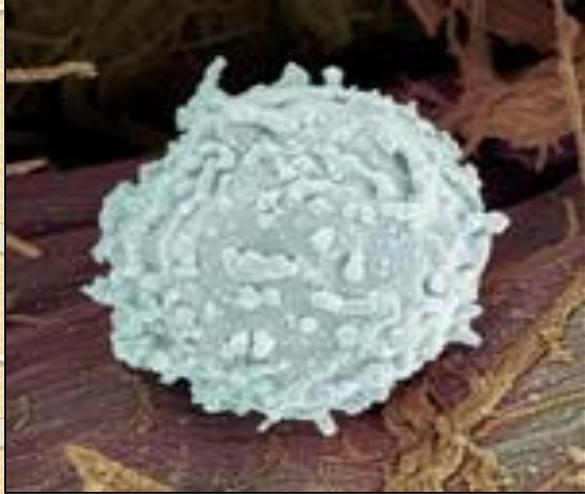
**Eritrocitos**



**Leucocitos**

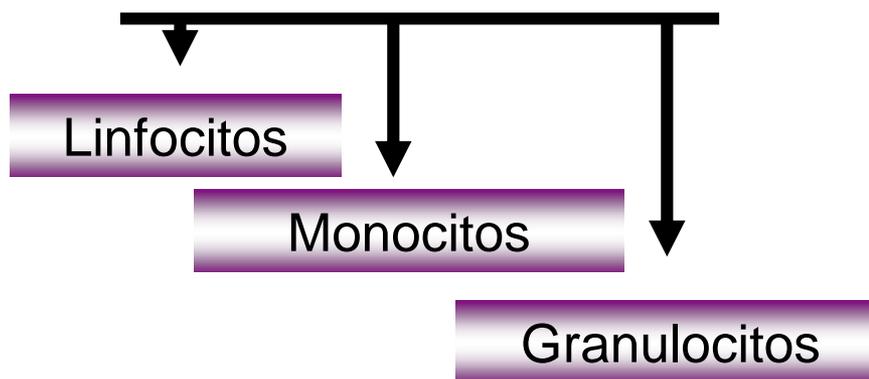
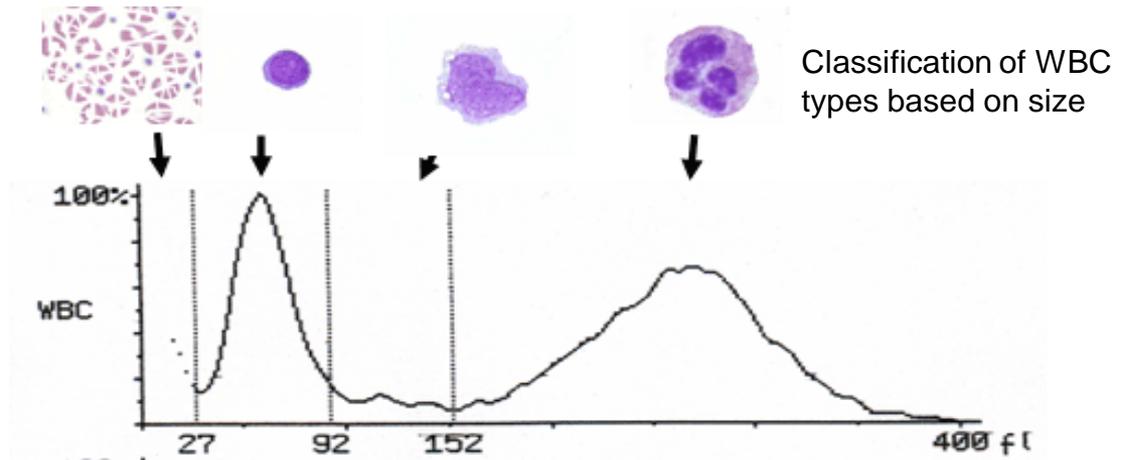


RECuento ≠

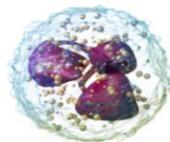


# DIFERENCIAL

Leucocitos



## CITOMETÍA DE FLUJO



Neutrophil

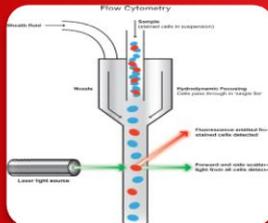
### CITO

- Célula



### METRÍA

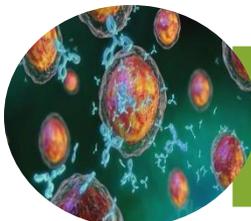
- Medición



### FLUJO

- Fluido

# INMUNOFENOTIPAJE

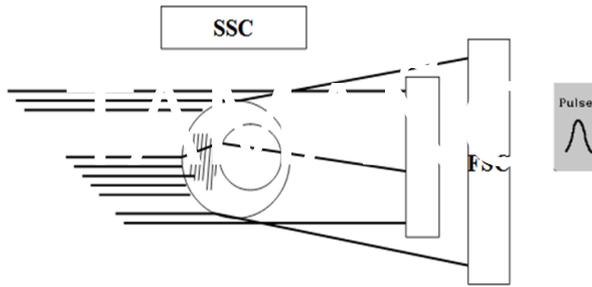


Líneas celulares

Tipos

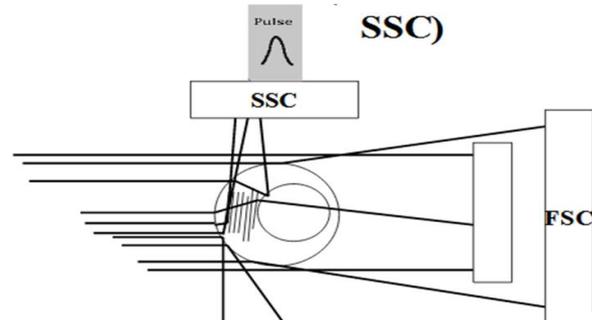
subtipos

# CITOMETRIA DE FLUJO



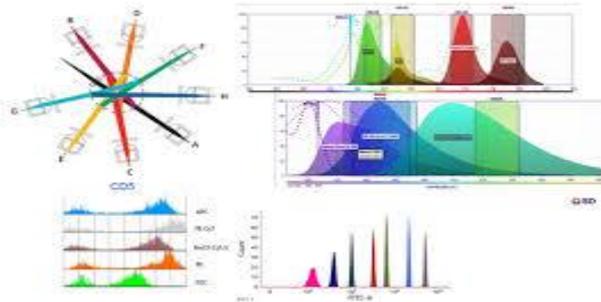
## • TAMAÑO

- El detector de FSC convierte la luz dispersada hacia **adelante** en un pulso de voltaje proporcional al tamaño de la célula /partícula



## • COMPLEJIDAD

- El detector SSC convierte la luz dispersada **lateralmente** (a 90 grados) en un pulso de voltaje proporcional al contenido de gránulos membranosos (granularidad, rugosidad de membrana, forma del núcleo) es decir la complejidad de la célula

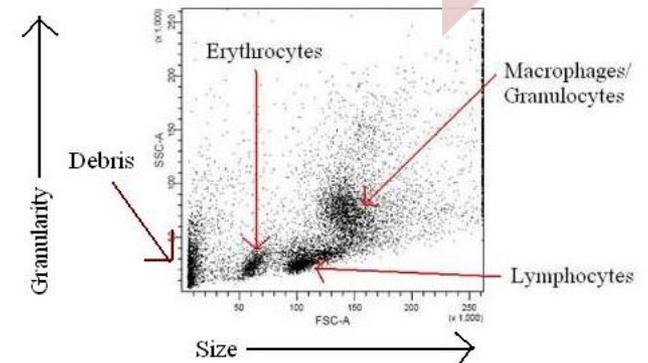


## • FLUOROCROMOS

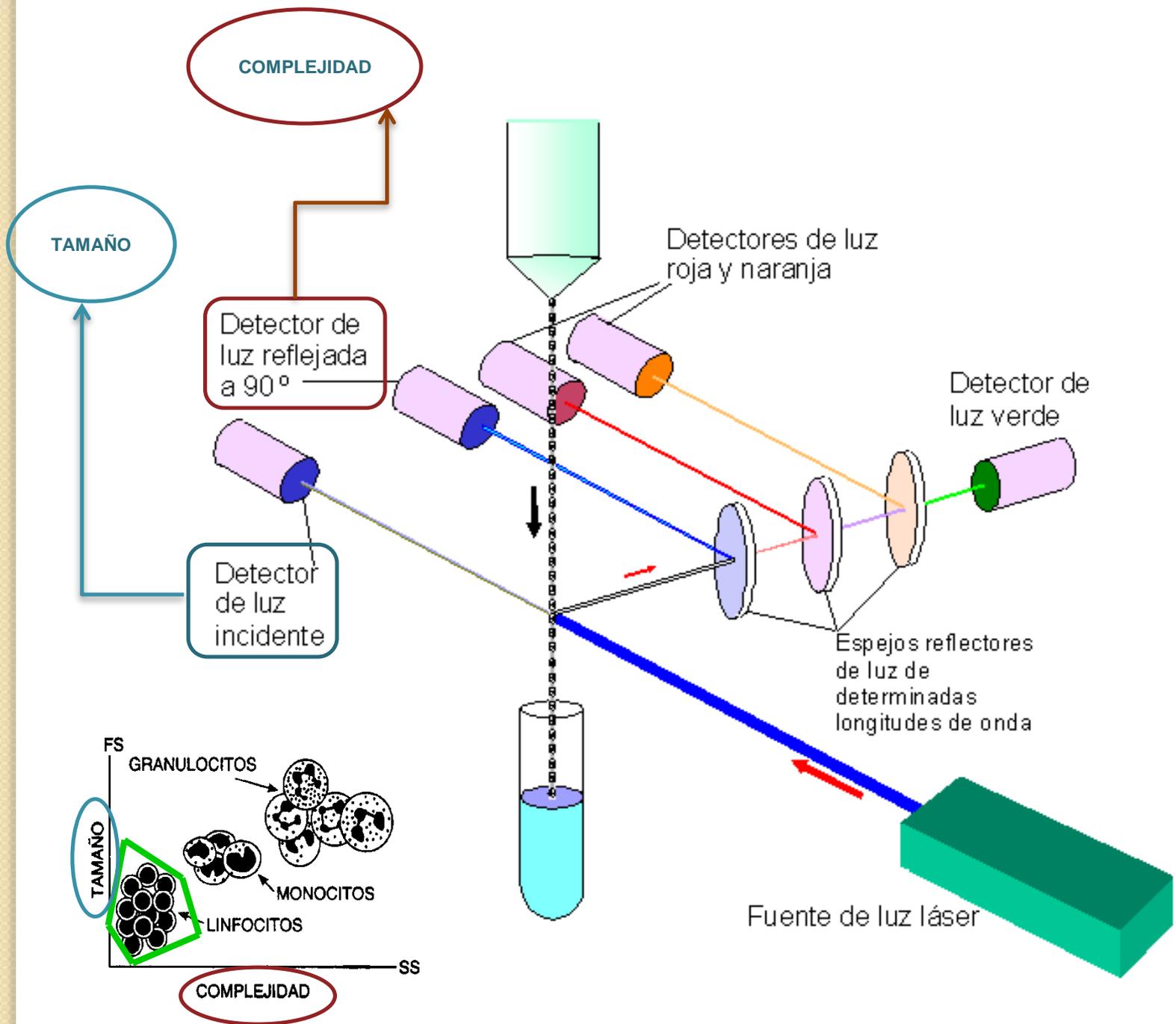
- Inmunoglobulinas monoclonales de rata contra antígenos concretos en la superficie celular, marcadas con colorantes fluorescentes: **verde (fluoresceína)** y/o **rojo (ficoeritrina)**.

FSC(Forward SCatter) parameter

SSC(Side SCatter) parameter



# CITOMETRIA DE FLUJO

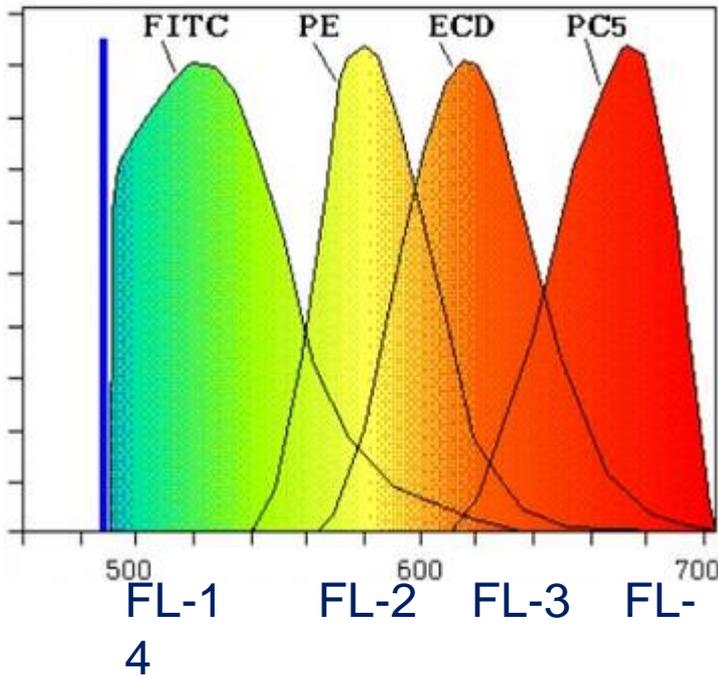


# DETECTORES DE FLORESCENCIA

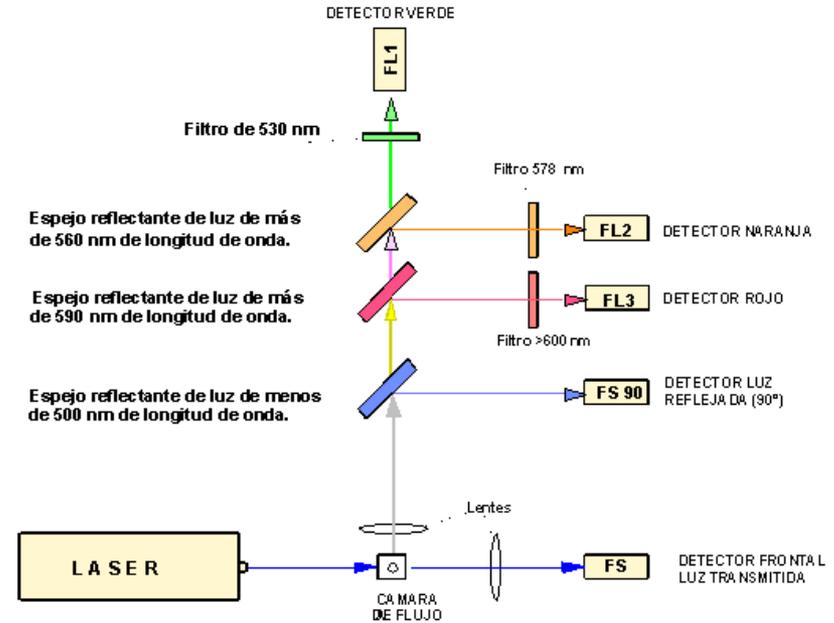
## FLUOROCROMOS

TC  
PerCP  
QR

Cy5  
ACP



## DETECTORES



Productos químicos que al ser estimulados con fotones con longitud de onda comprendida entre determinados rangos (de excitación) emiten a su vez otro fotón de longitud de onda mayor (de emisión).

# Fluorochrome Specifications

Fluorochrome	Fluorescence Emission Color	Ex-Max (nm)	Excitation Laser Line (nm)	Em-Max (nm)	BD FACSAria™
Alexa Fluor® 405	Blue	401	360, 405, 407	421	✓
Pacific Blue®	Blue	405	360, 405, 407	455	✓
AmCyan	Green	457	405, 407	491	✓
Alexa Fluor® 488	Green	495	488	519	✓
FITC	Green	494	488	519	✓
PE	Yellow	496, 564	488, 532	578	✓
PE-Texas Red®	Orange	496, 564	488, 532	615	✓
Texas Red®**	Orange	595	595	615	✓
APC*	Red	650	595, 633, 635, 647	660	✓
Alexa Fluor® 647	Red	650	595, 633, 635, 647	668	✓
PE-Cy5*	Red	496, 564	488, 532	667	✓
PerCP	Red	482	488, 532	678	✓
PerCP-Cy5.5	Far Red	482	488, 532	695	✓
Alexa Fluor® 700***	Far Red	696	633, 635	719	✓
PE-Cy7	InfraRed <sup>†</sup>	496, 564	488, 532	785	✓
APC-Cy7	InfraRed <sup>†</sup>	650	595, 633, 635, 647	785	✓

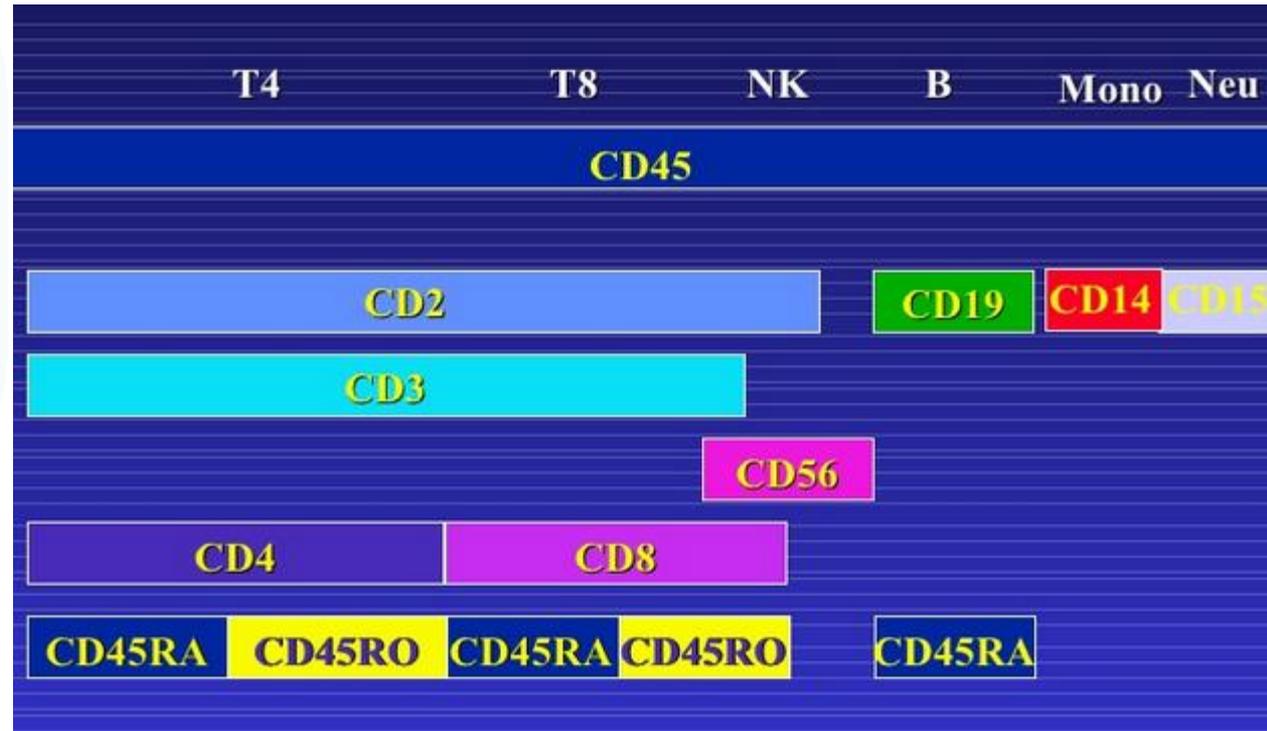
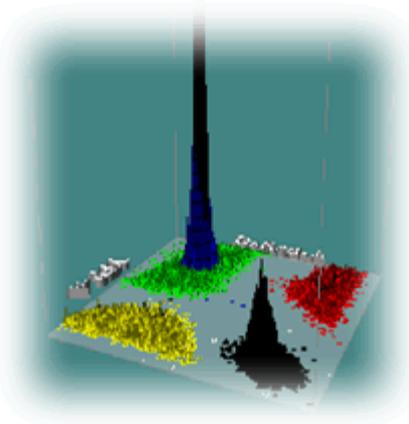
<sup>†</sup> InfraRed detection requires a Hamamatsu R3896 Photomultiplier Tube (comes with detector option).

\* APC and PE-Cy5 may be used together on instruments with cross-beam compensation.

\*\* Texas Red® detection requires a dye laser for 595-600 nm excitation.

\*\*\* Alexa Fluor® 700 detection is available through an expanded optical configuration.

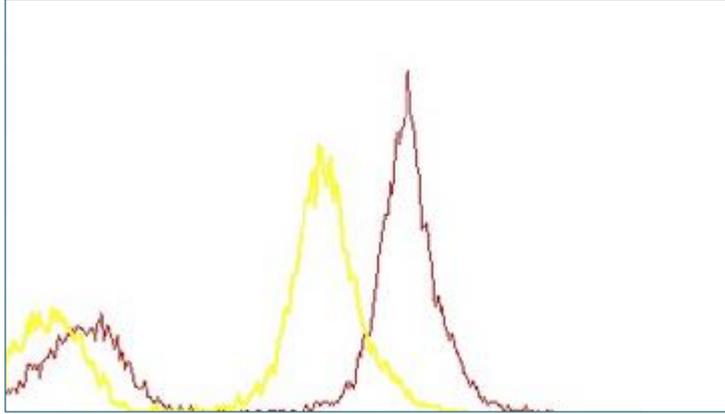
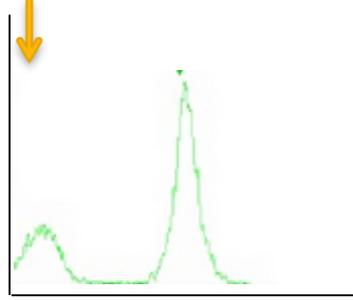
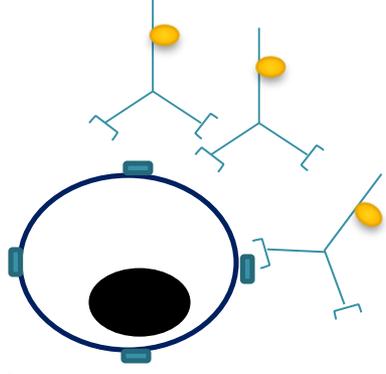
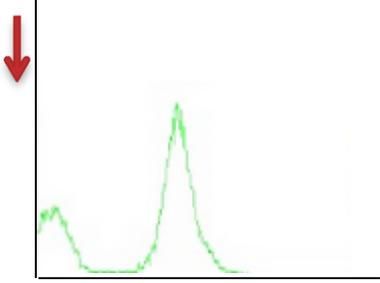
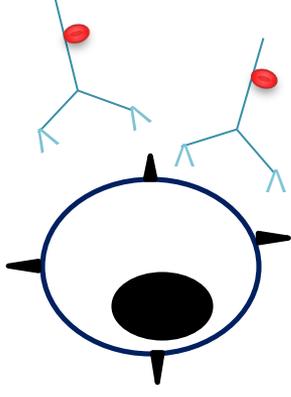
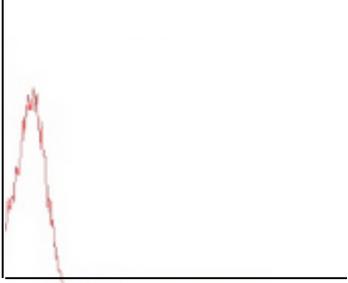
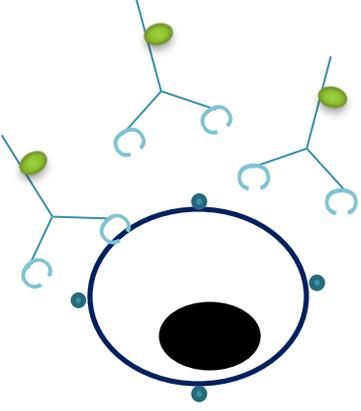
## HETEROGENEIDAD CELULAR



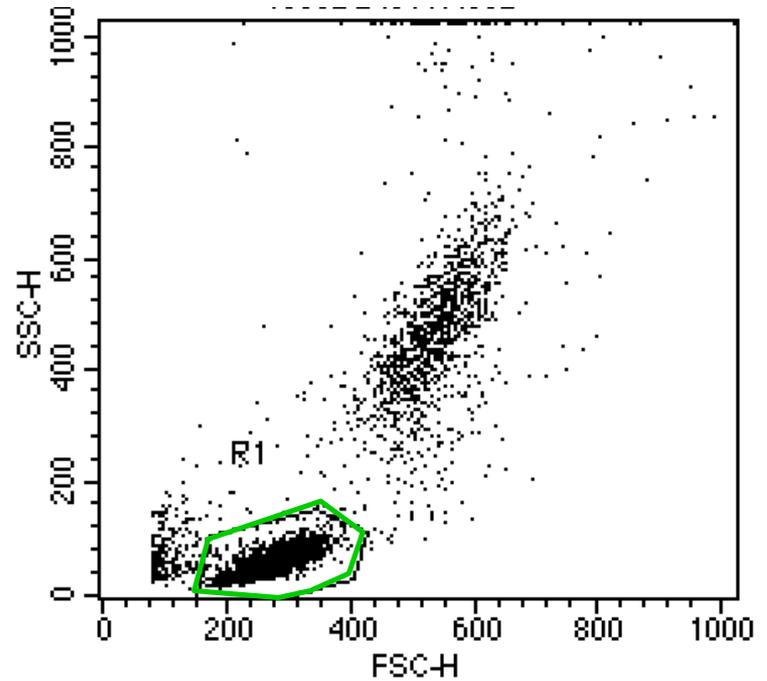
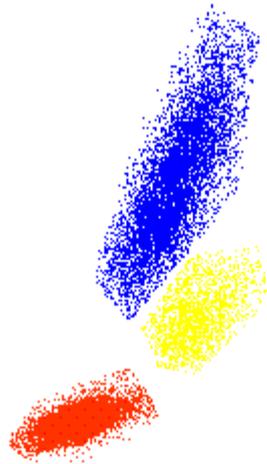
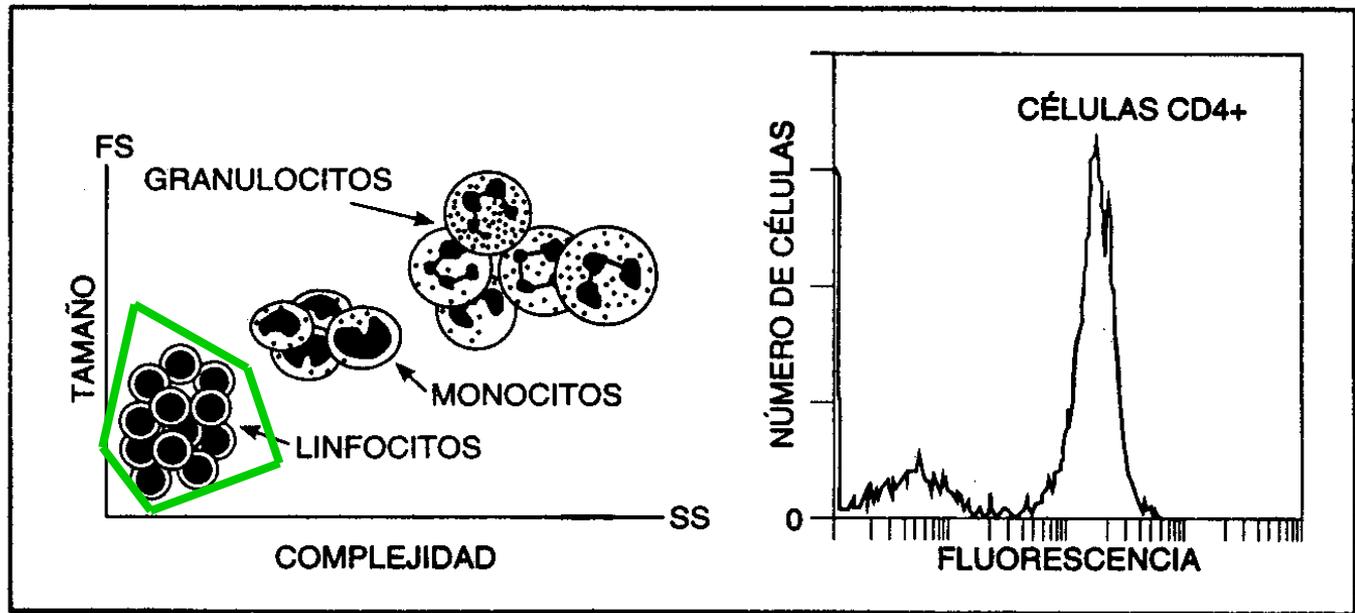
### FLUORESCENCIAS MULTIPLES

Es posible combinar a la vez 2 a 4 colorantes fluorescentes siempre que emitan en diferente longitud de onda (excitarlos a la vez y discriminar los fotones emitidos)

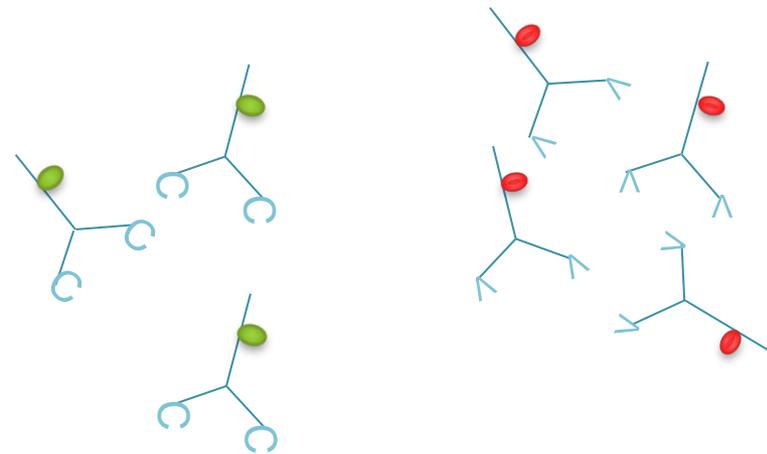
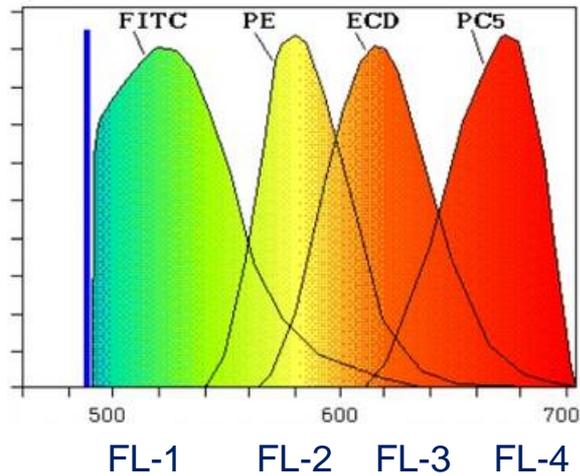
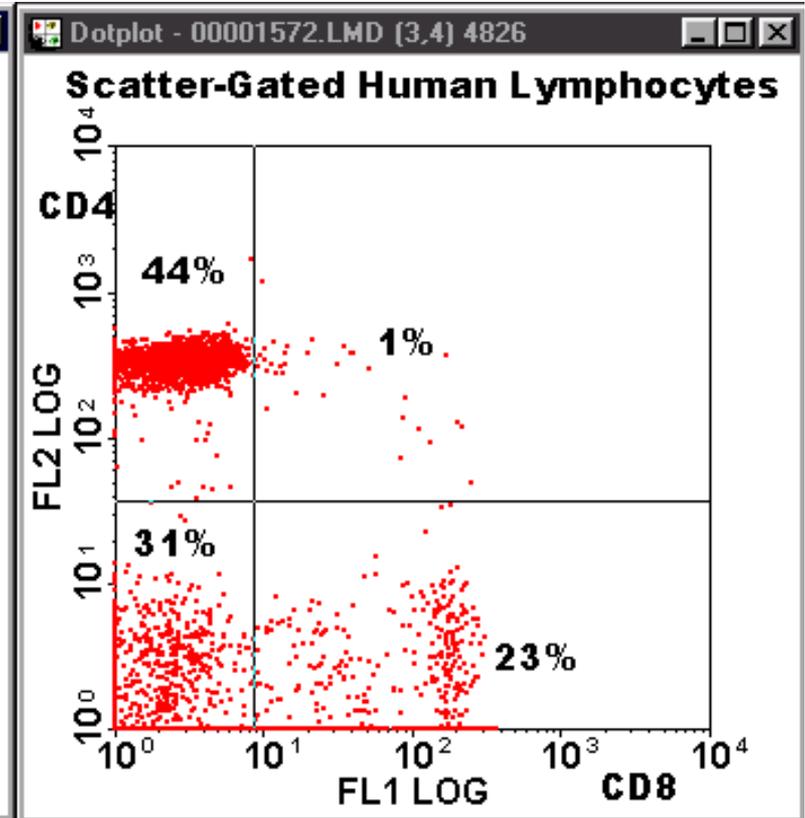
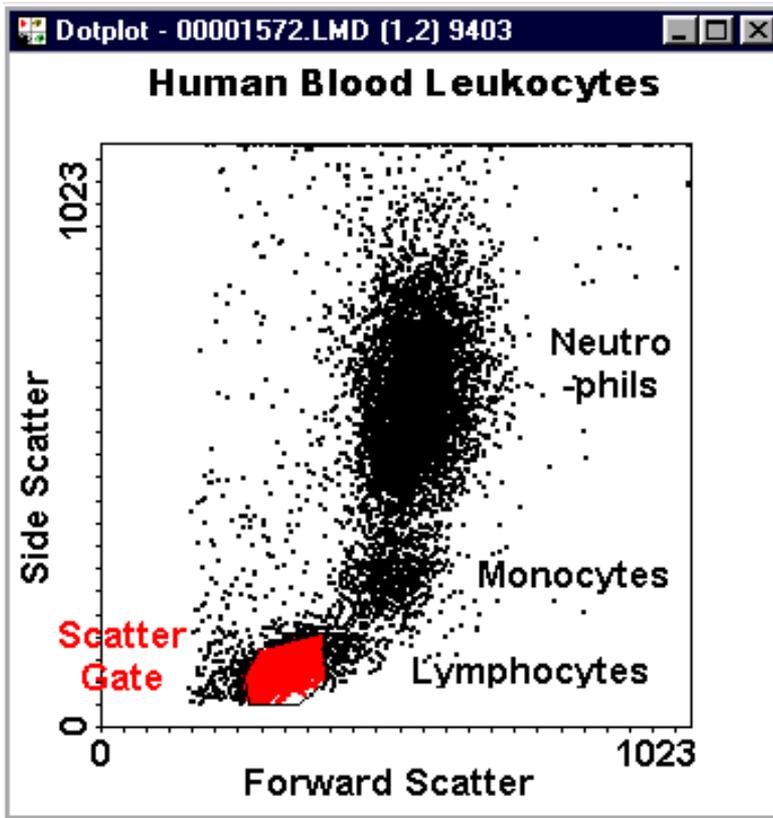
# PRECITOMETRÍA



# INMUNOFENOTIPAJE

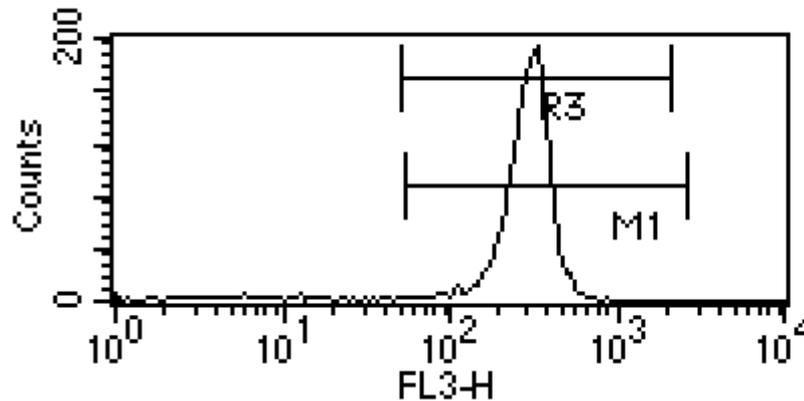
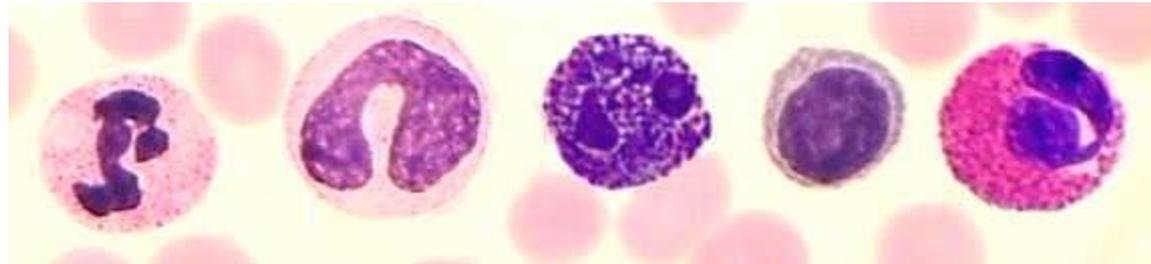


# INMUNOFENOTIPAJE



Todos los leucocitos expresan antígeno 45

# CD45+

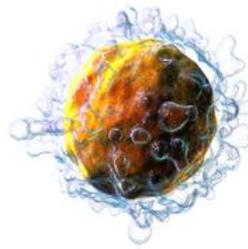


Marker	% Gated
All	100.00
M1	98.83

Ag común de leucocitos, CD45 pertenecen a una familia compleja de glicoproteínas de alto peso molecular (180 - 220 kDa) y posee actividad tirosín-fosfatasa jugando un rol importante en la regulación de la diferenciación celular.

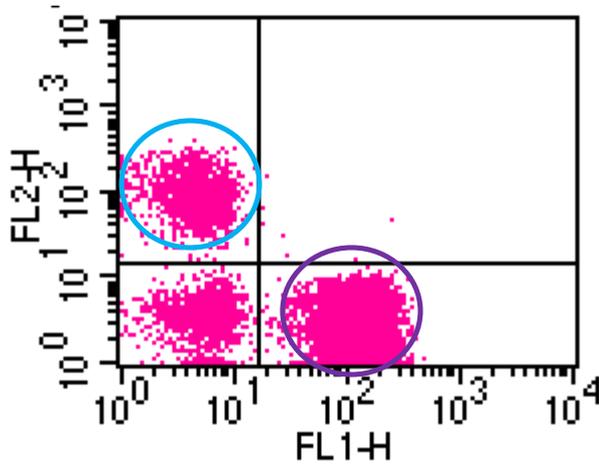
## Multitest™

CD3/CD16+CD56/CD45/CD19



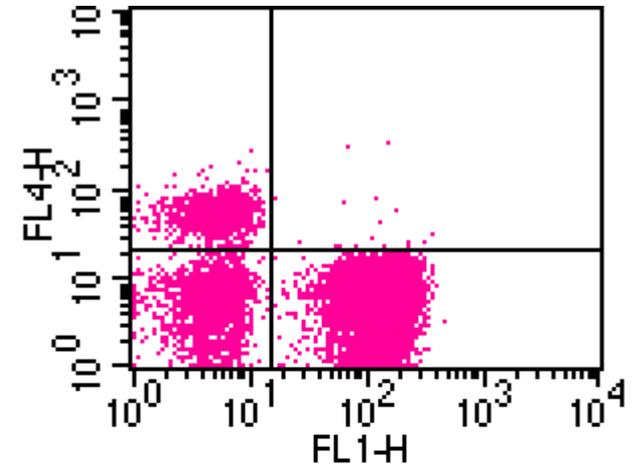
Lymphocyte  
T cell

Reagent	Concentration (µg/mL)
CD3 FITC	2.3
CD16+CD56 PE	2.75
CD45 PerCP	7.50
CD19 APC	2.3



Gate: G3

Quad	% Gated	% Total
UL	13.33	7.47
UR	0.06	0.03
LL	10.64	5.97
LR	75.97	42.61

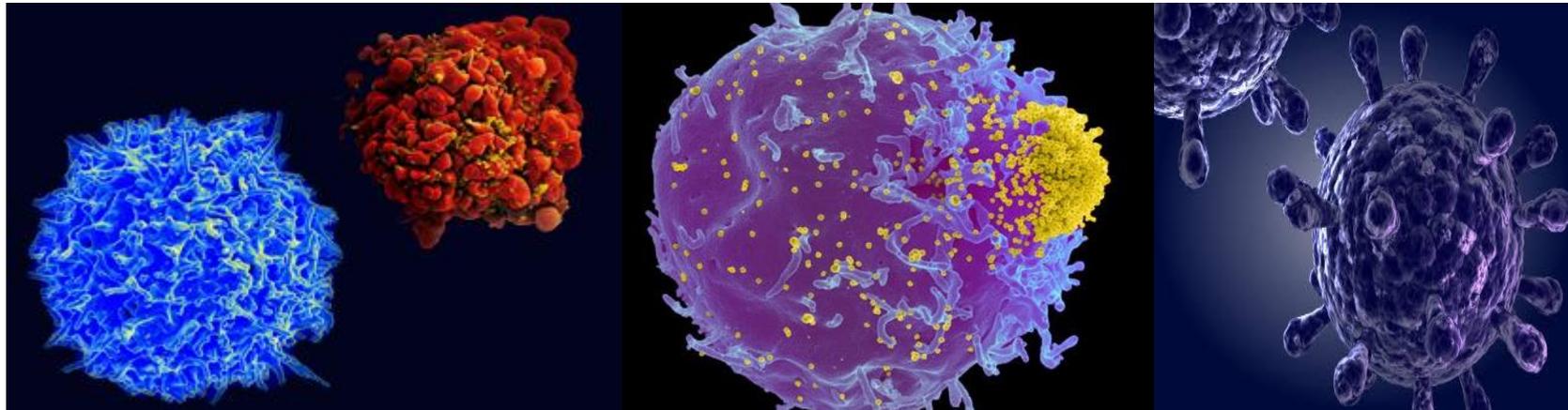


Gate: G3

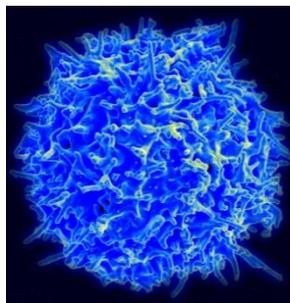
Quad	% Gated	% Total
UL	9.77	5.48
UR	0.22	0.12
LL	14.16	7.95
LR	75.84	42.54

## Representative reference ranges for BD Multitest CD3/CD16+CD56/CD45/CD19

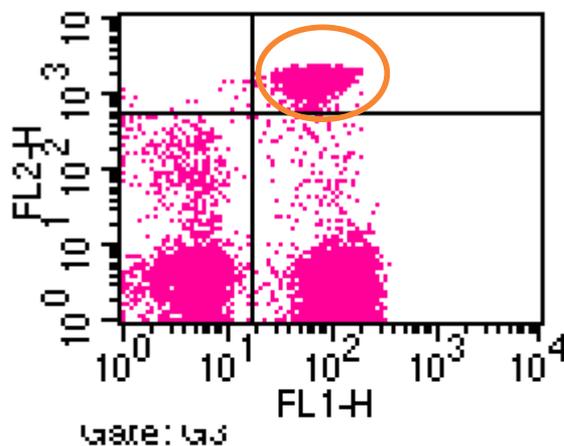
Subset	N	Unit	Mean	95% Range
NK lymphocytes	164	%	13	5–26
		cells/ $\mu$ L	267	84–724
B lymphocytes	164	%	14	5–22
		cells/ $\mu$ L	293	80–616
T lymphocytes	164	%	72	56–86
		cells/ $\mu$ L	1,507	754–2,764



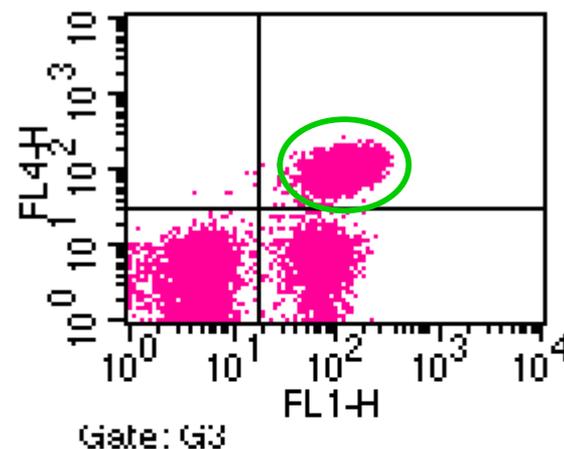
Multitest™  
CD3/CD8/CD45/CD4



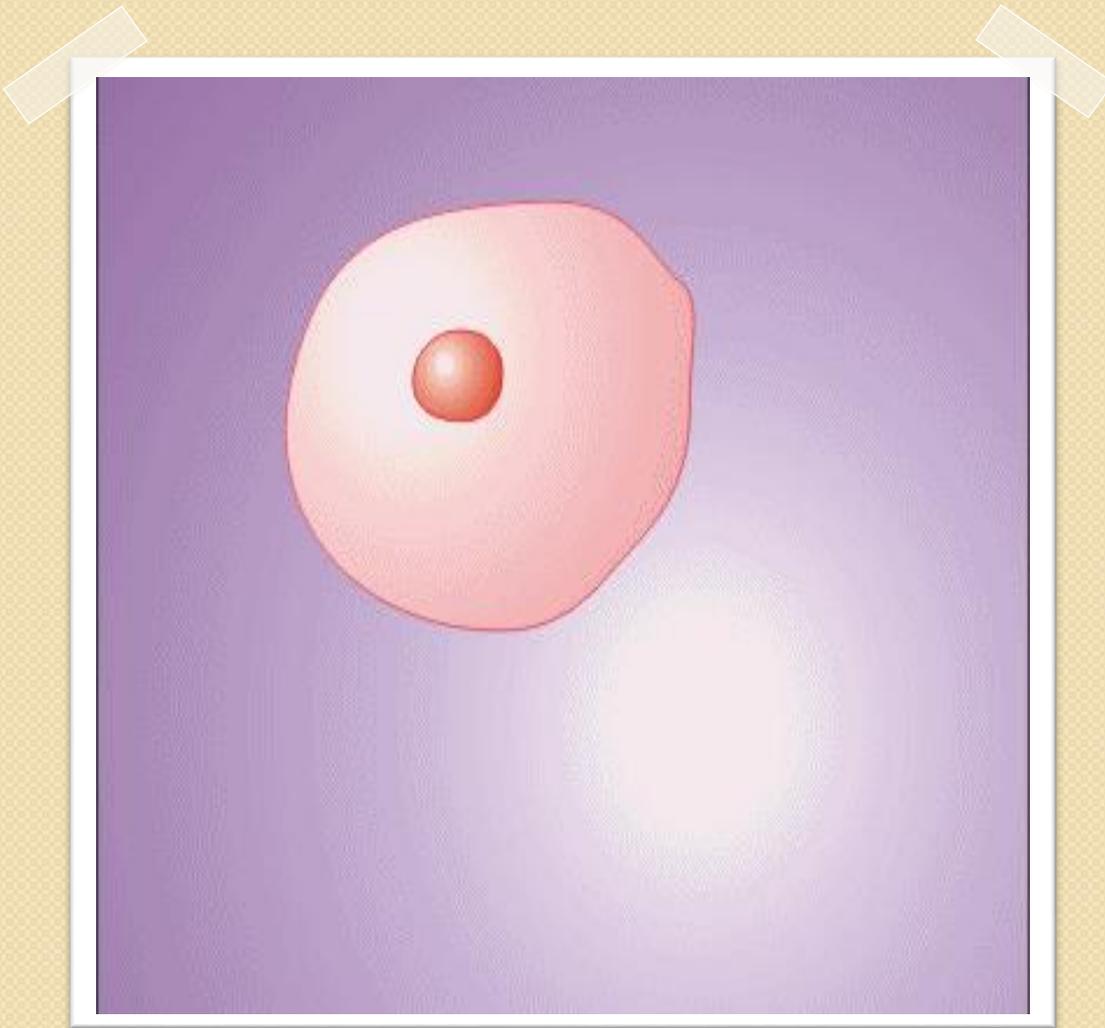
Reagent	Concentration (µg/mL)
CD3 FITC	2.3
CD8 PE	1.75
CD45 PerCP	7.50
CD4 APC	0.92



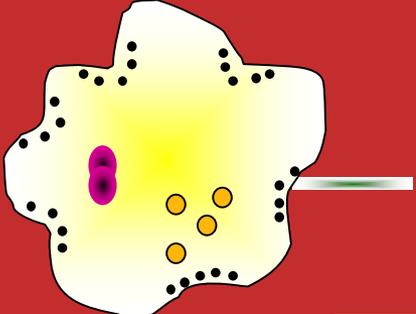
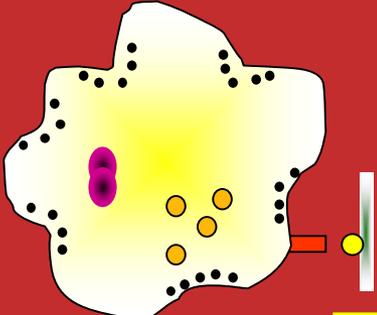
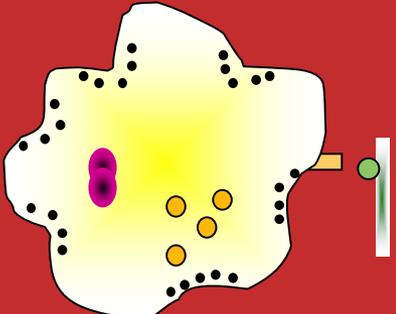
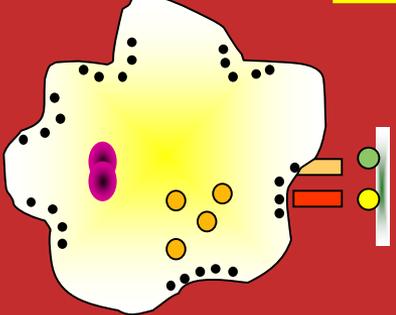
Quad	% Gated	% Total
UL	0.17	0.09
UR	15.72	8.37
LL	25.26	13.44
LR	58.84	31.30

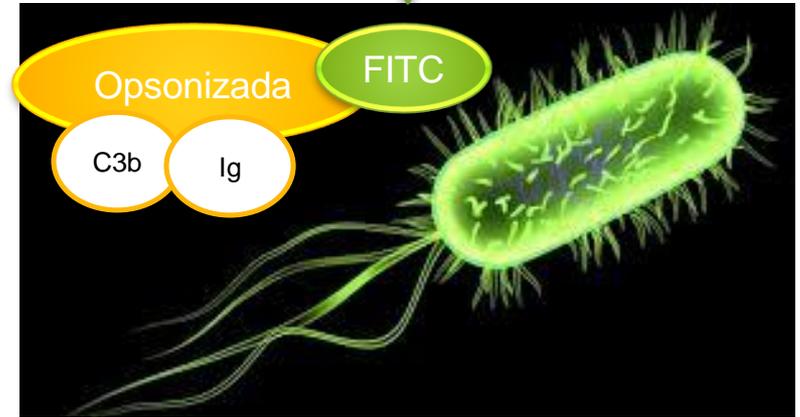
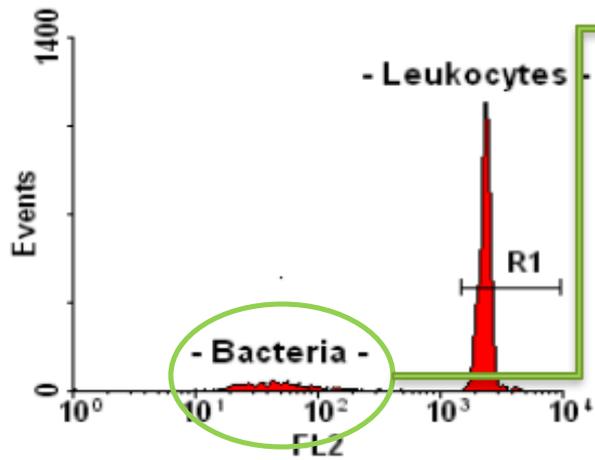


Quad	% Gated	% Total
UL	0.06	0.03
UR	56.75	30.19
LL	25.38	13.50
LR	17.82	9.48

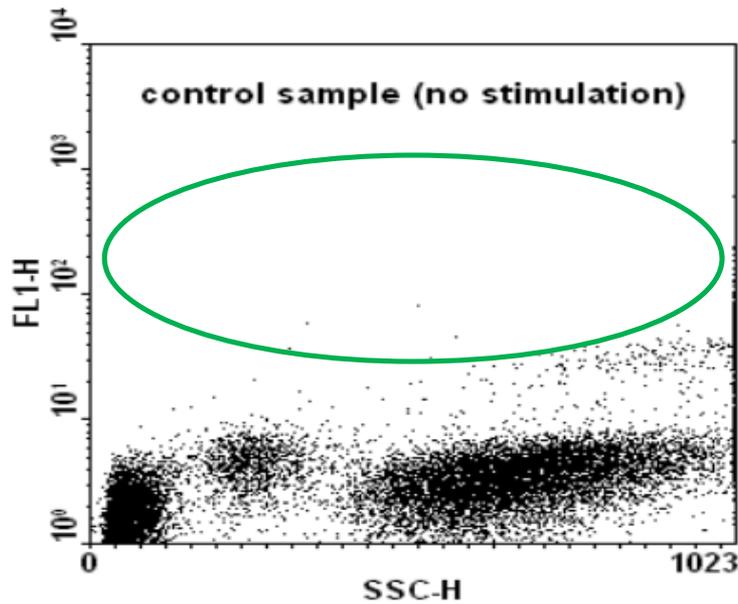


**PHAGO  
&  
BUSRT TEST**

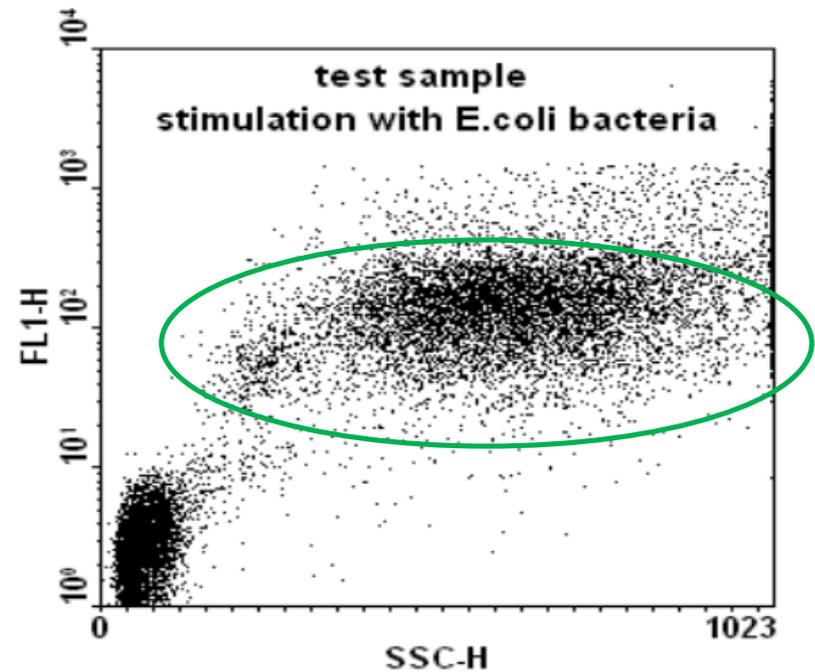
	Opsonina	Unión
	-	+ -
	fracción C3b del complemento	++
	Anticuerpo	++
	Anticuerpo y fracción C3b del complemento	++++



DNA leucocitos (FL2 histograma)



Dot plot lin SSC / log FL1 of control sample (no stimulation)

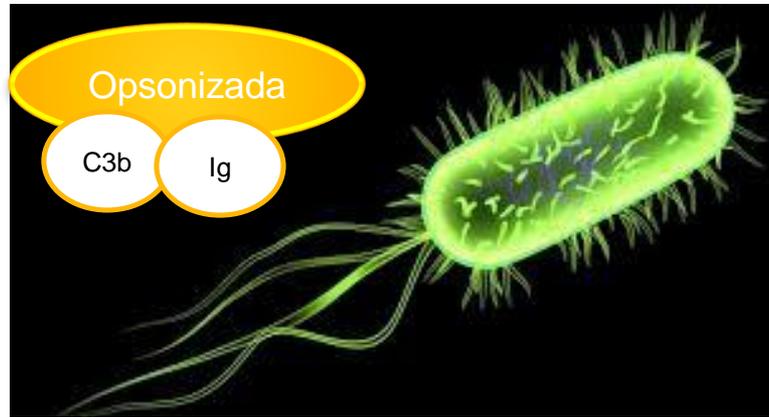


Dot plot lin SSC / log FL1 of test sample (stimulation with E.coli bacteria)

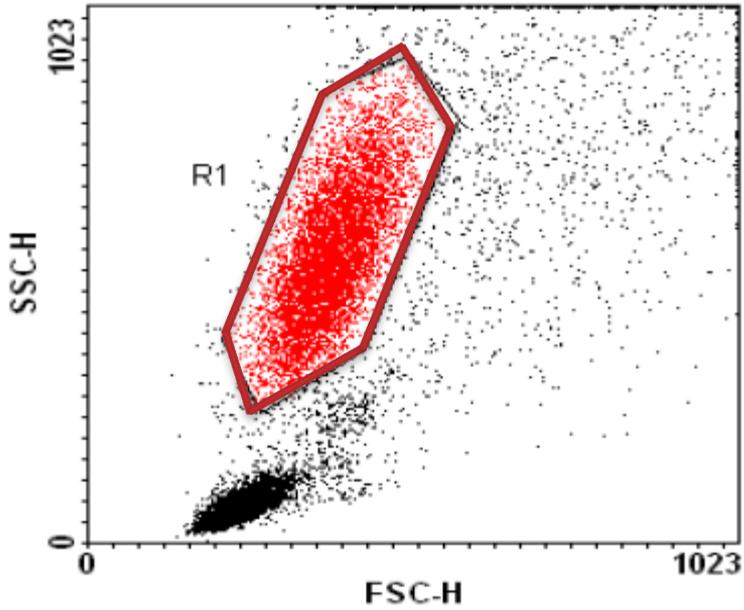
# CAPACIDAD OXIDATIVA

## DESTRUCCIÓN

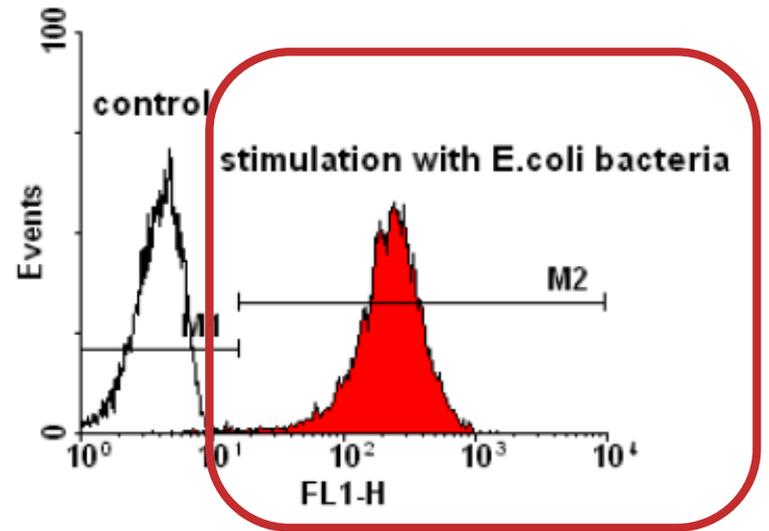
### EXPLOSIÓN OXIDATIVA



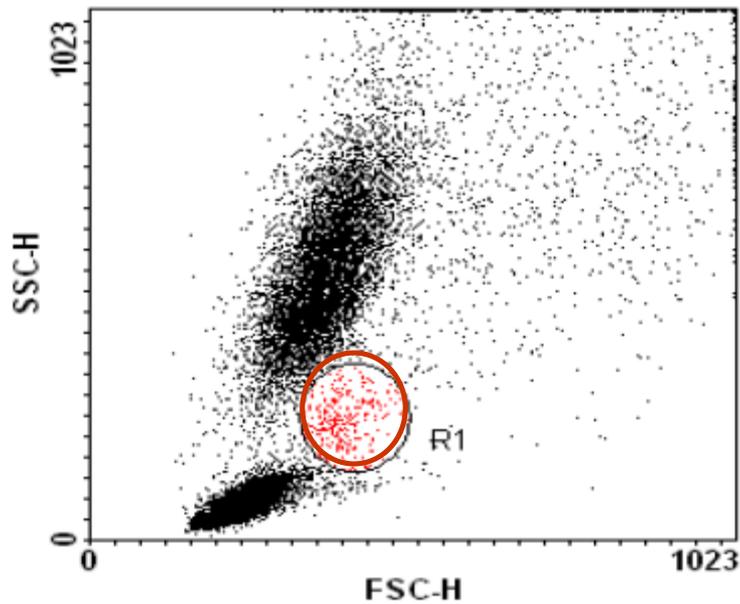
Determina el porcentaje de células fagocíticas que producen oxidantes reactivos (conversión de DHR 123 a R 123) y su actividad enzimática (cantidad de R 123 por célula).



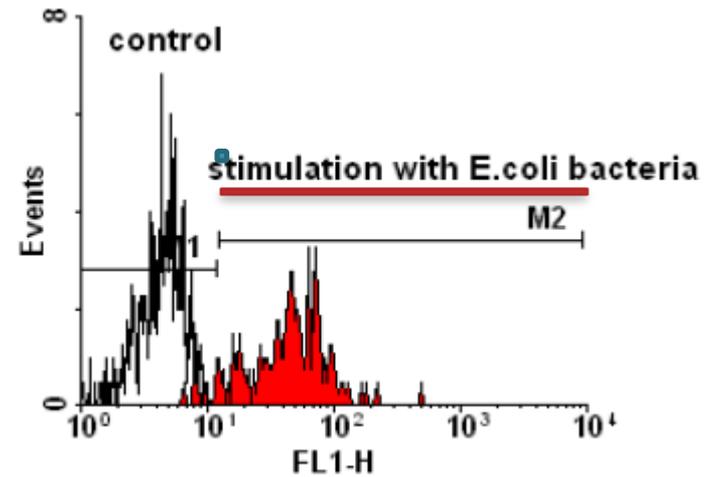
Typical dot plot FSC/SSC, gate set on granulocytes, stimulation with E.coli bacteria



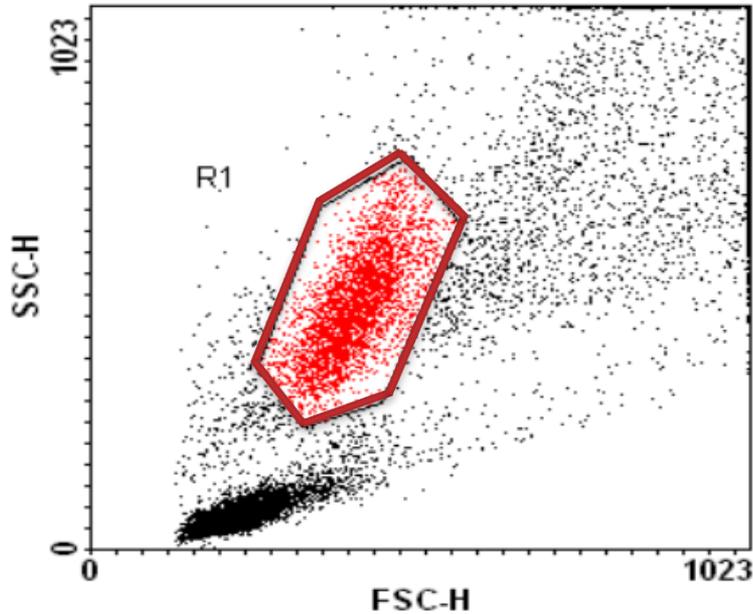
Typical FL1 histogram, gate set on granulocytes, stimulation with E.coli bacteria



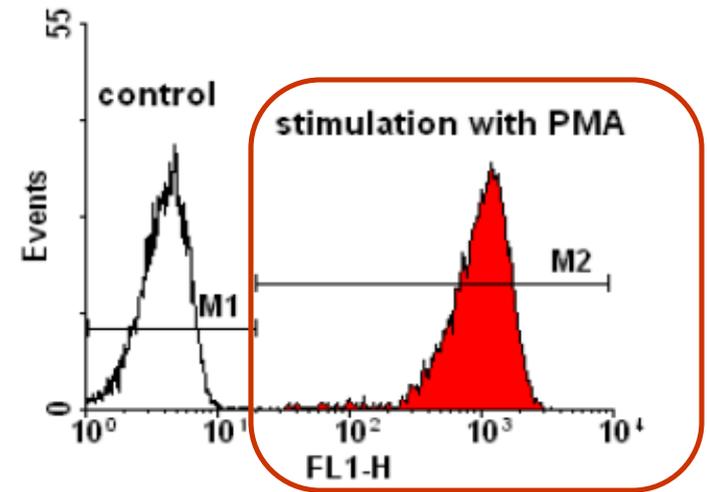
Typical dot plot FSC/SSC, gate set on monocytes, stimulation with E.coli bacteria



Typical FL1 histogram, gate set on monocytes, stimulation with E.coli bacteria



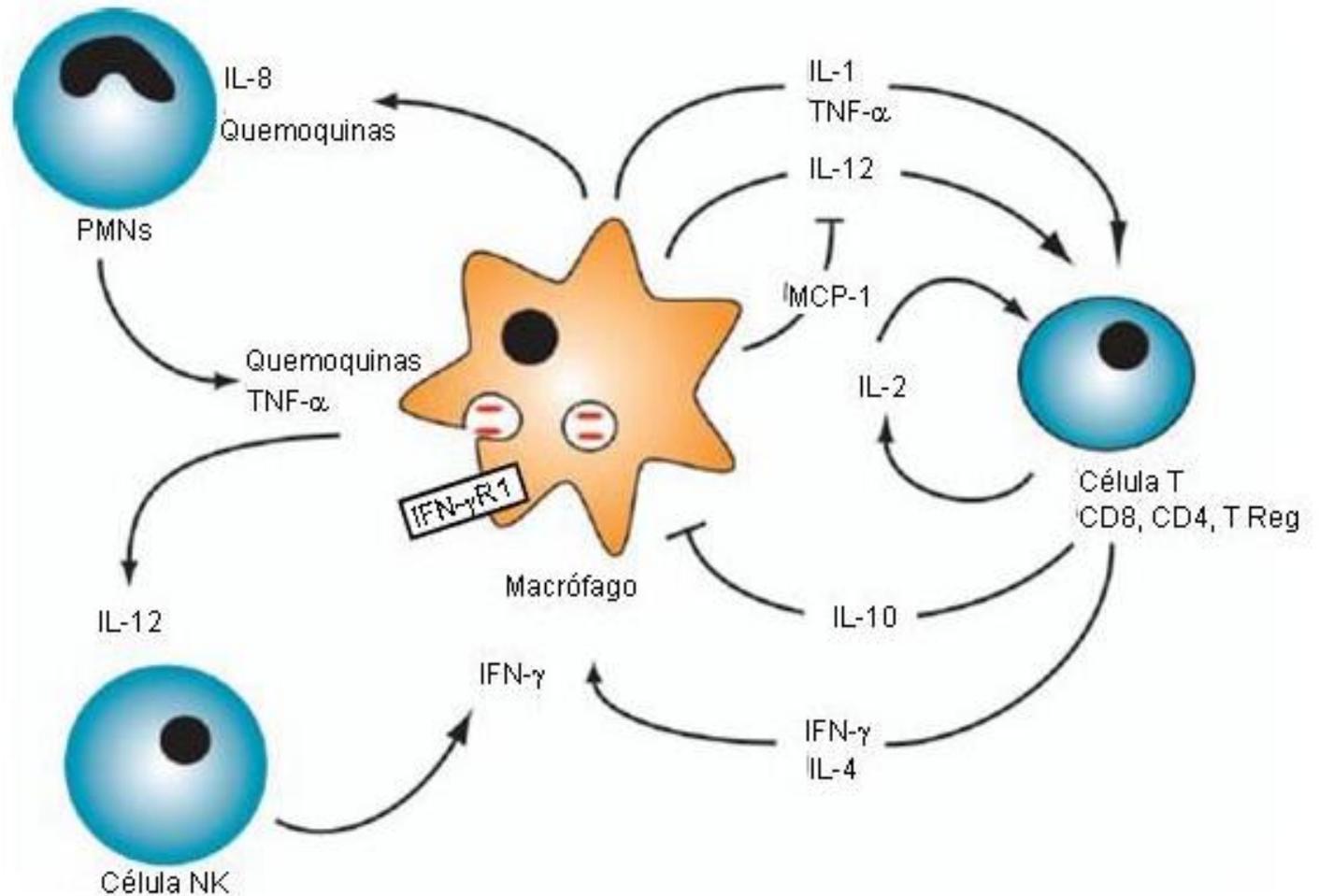
Typical dot plot FSC/SSC, gate set on granulocytes, stimulation with PMA



Typical FL1 histogram, gate set on granulocytes, stimulation with PMA

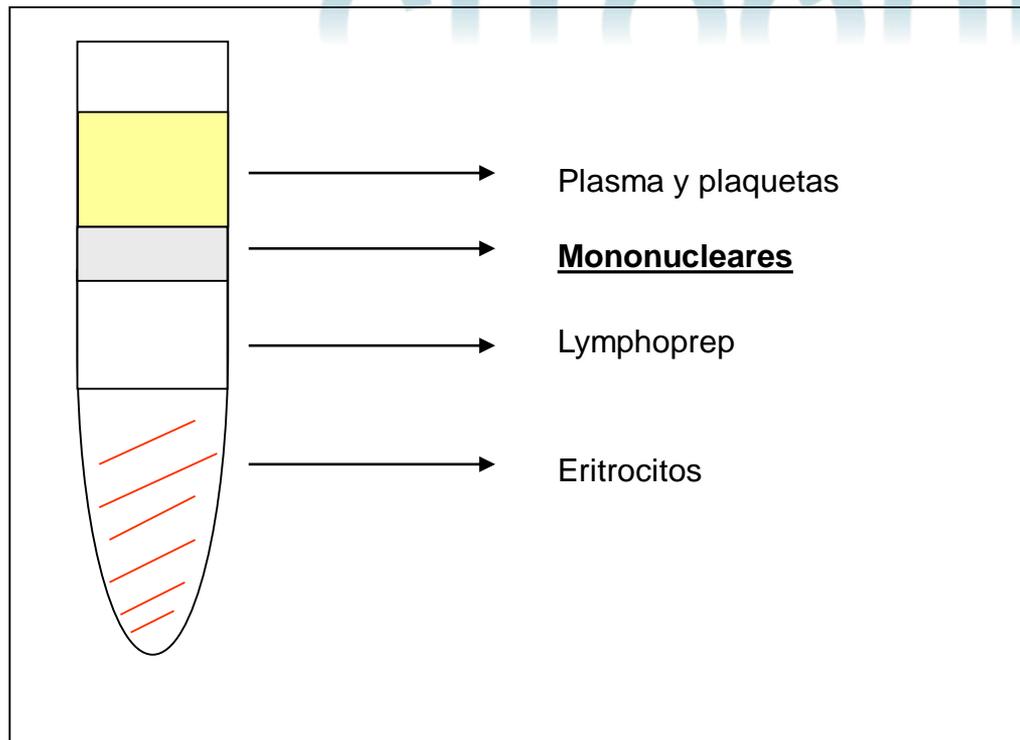
*Acetato de forbol mirístico (PMA)*

# CITOQUINAS

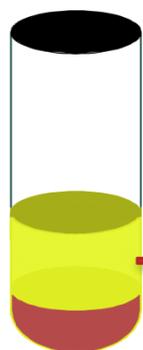


# CITOQUINAS

## MÉTODOS



Niveles de diferentes citoquinas. IL2, TNF- $\alpha$ ..  
**(cultivos celulares activados con mitógenos: PHA, ConA, LPS) (ELISA, CBA).**



Cuantificación de niveles de citoquinas en plasma o suero

# ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY

1

**Ensayo de inmunoadsorción**

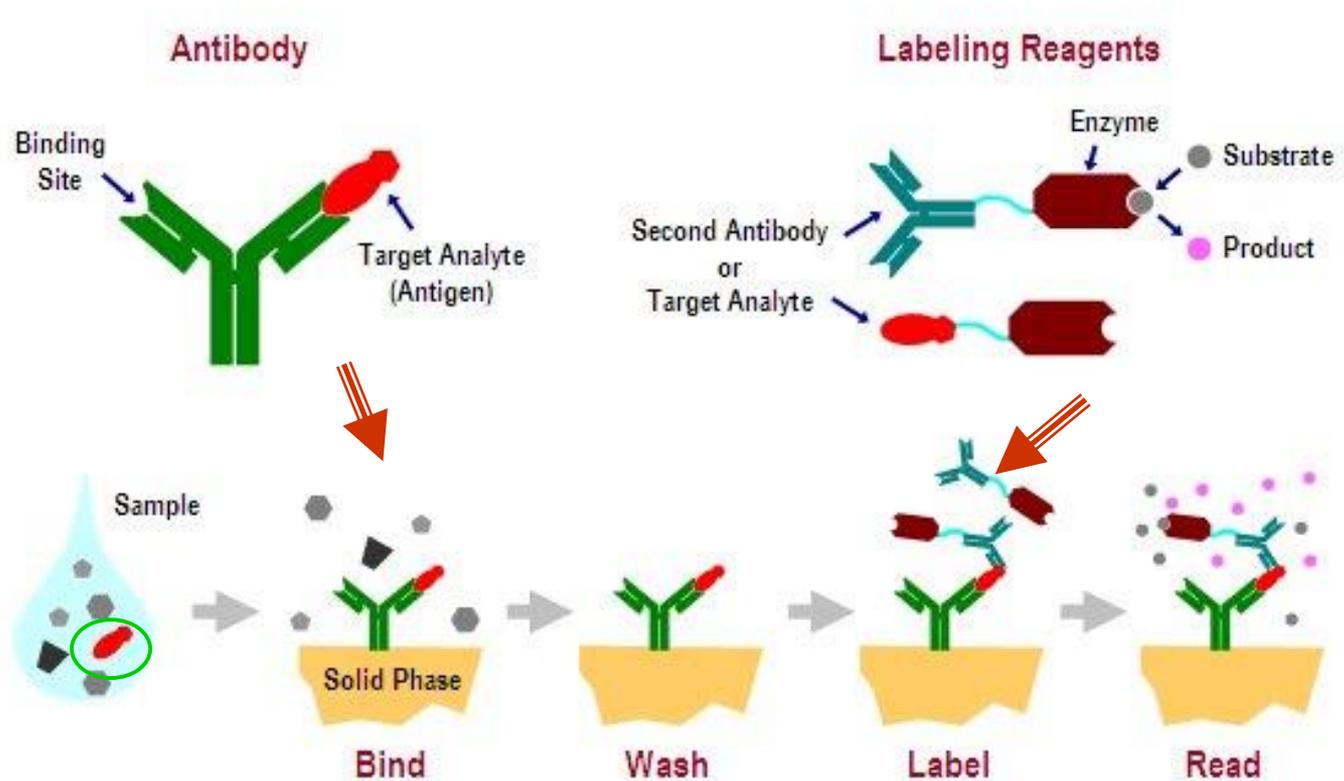
2

**Detección cuantitativa de citoquinas en sobrenadantes de cultivos celulares, suero, plasma, u otros fluidos**

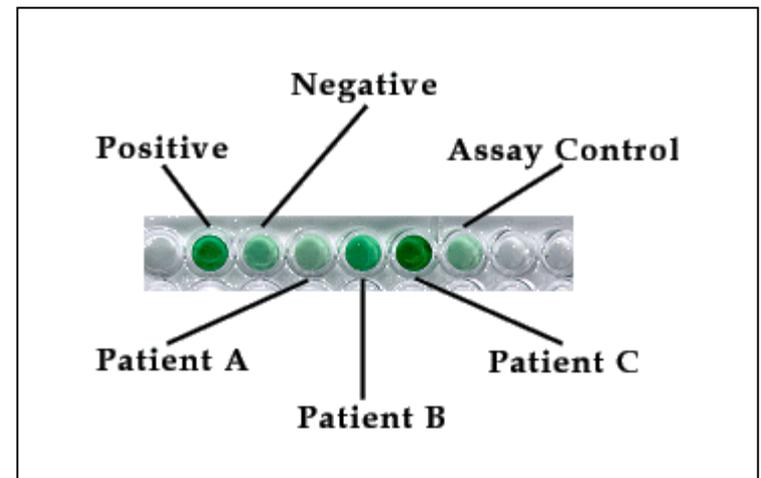
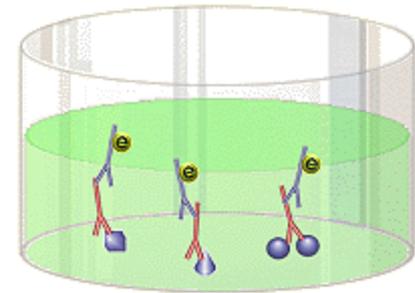
3

**Basado en la unión específica de la citoquina contenida en la muestra a anticuerpos monoclonales específicos inmovilizados sobre la superficie de las placas de titulación**

# ELISA

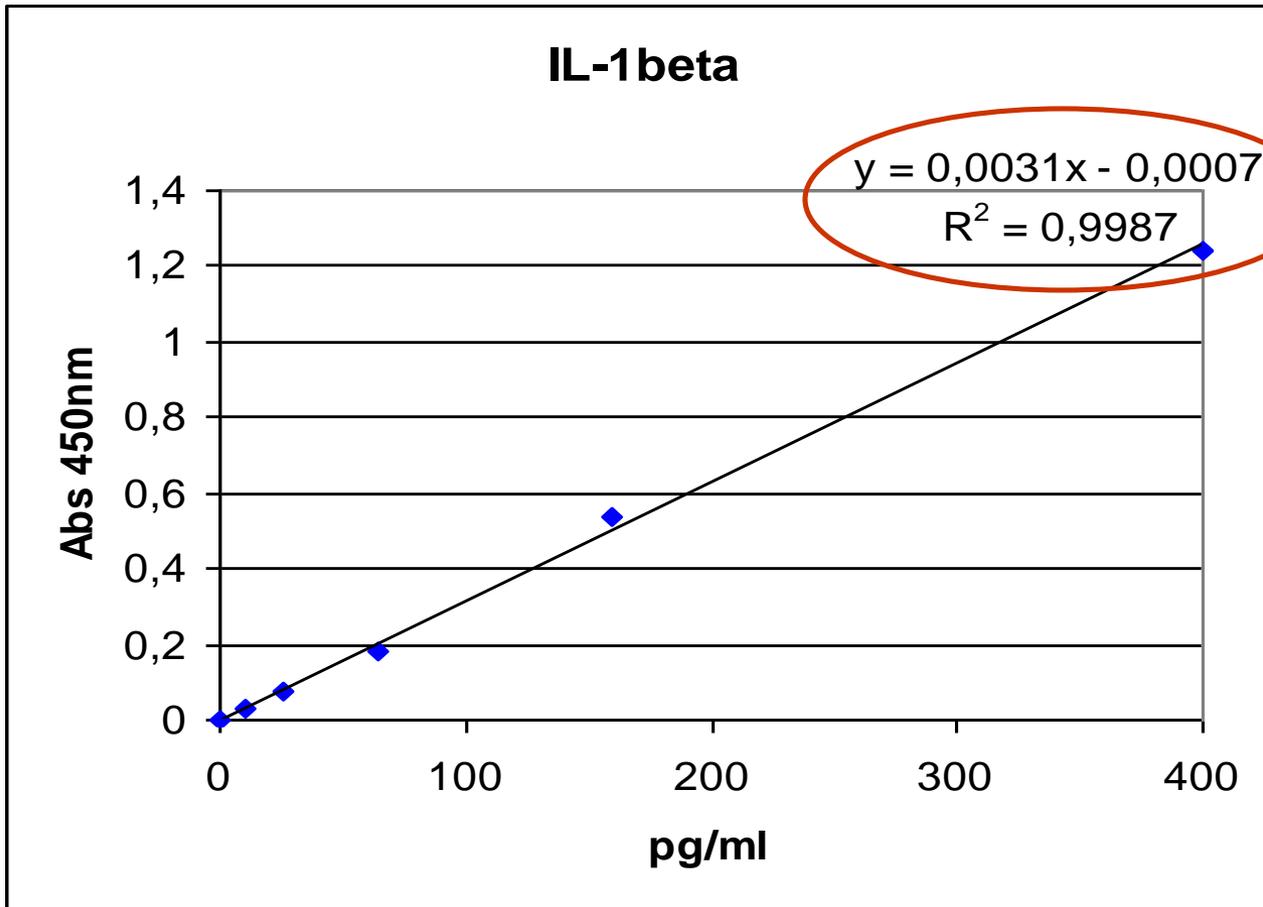


# ELISA



# CUANTIFICACIÓN

ELISA



# CITOMETRIC BEAD ARRAY

CBA

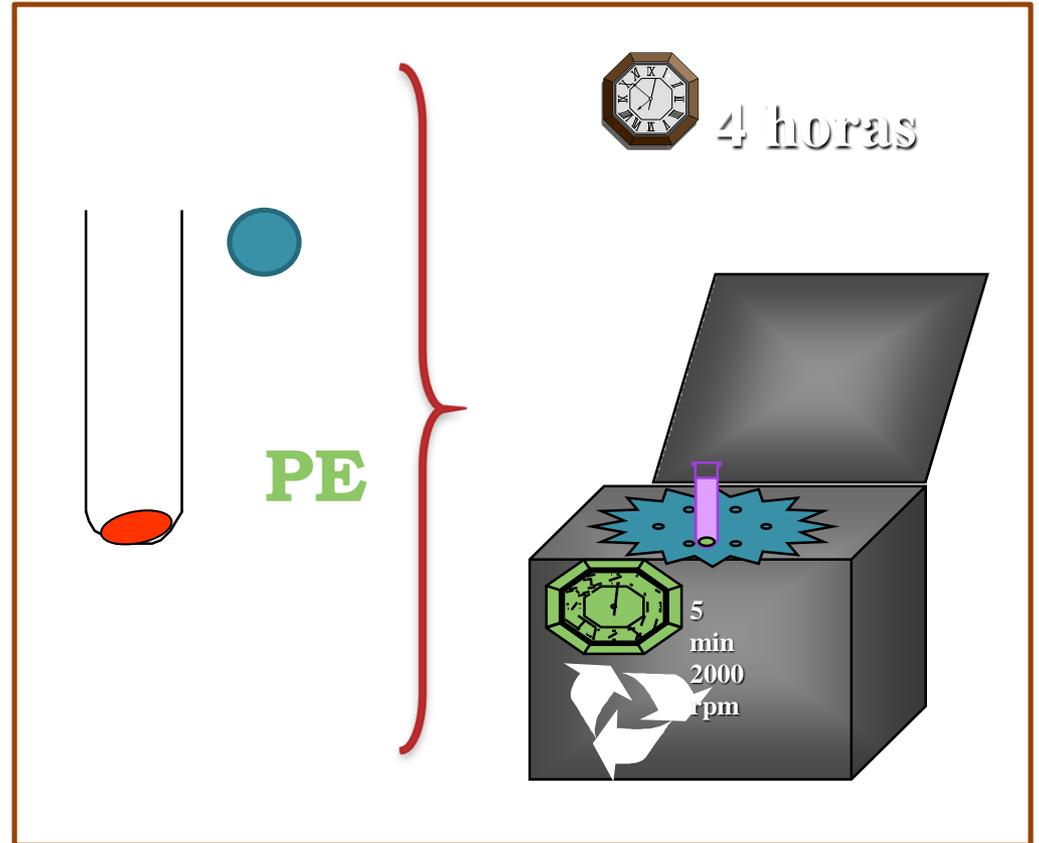


# CITOMETRIC BEAD ARRAY

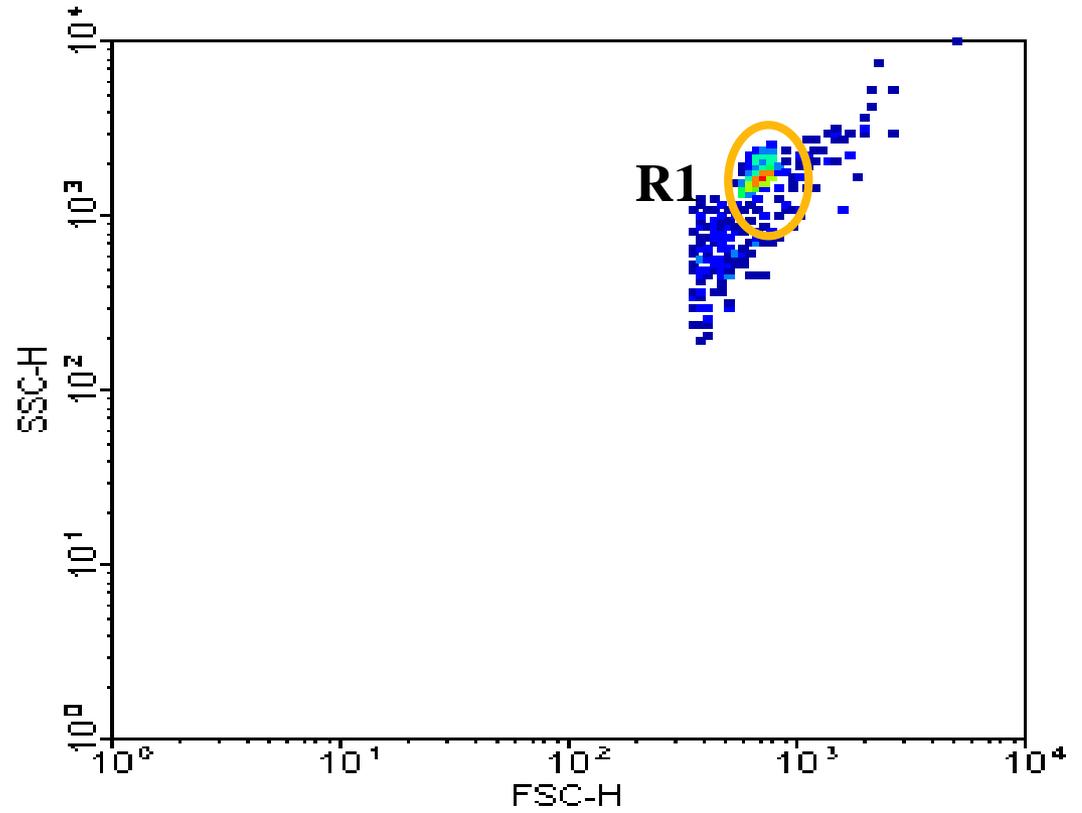
**50  $\mu$ l de muestra**

**50  $\mu$ l de detector-PE**

**50  $\mu$ l de Ac-  
microesferas**

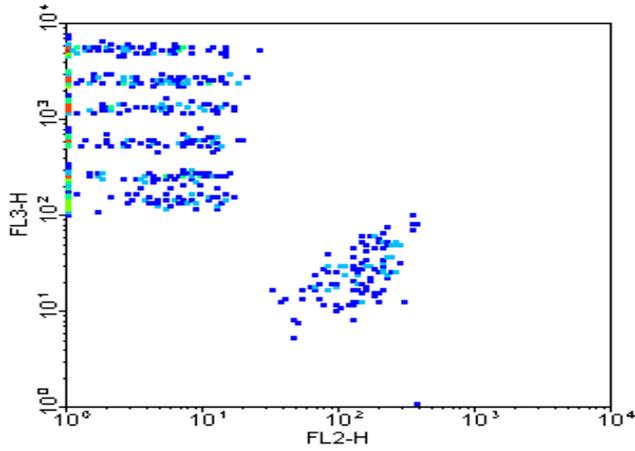


# CBA

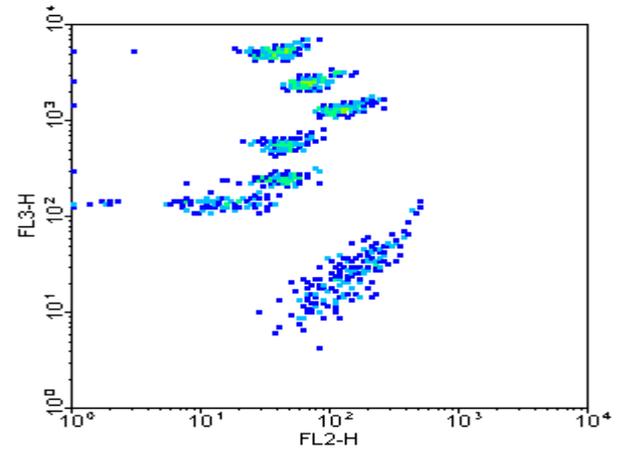


**R1: The single bead populations**

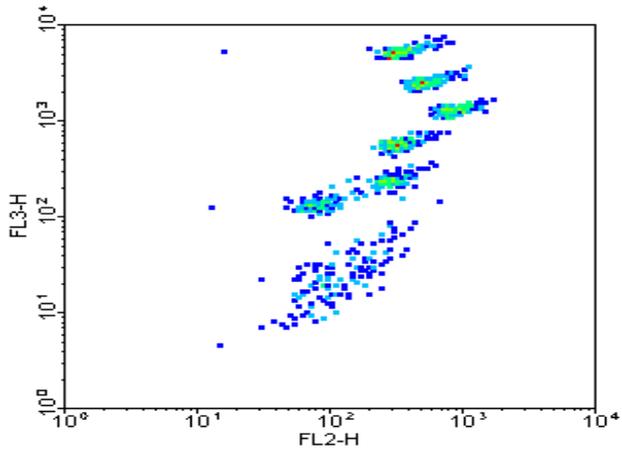
## Negative control



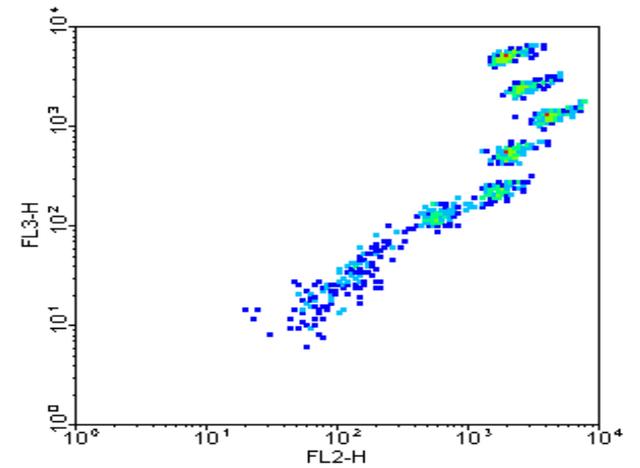
## Standars 80 pg/ml



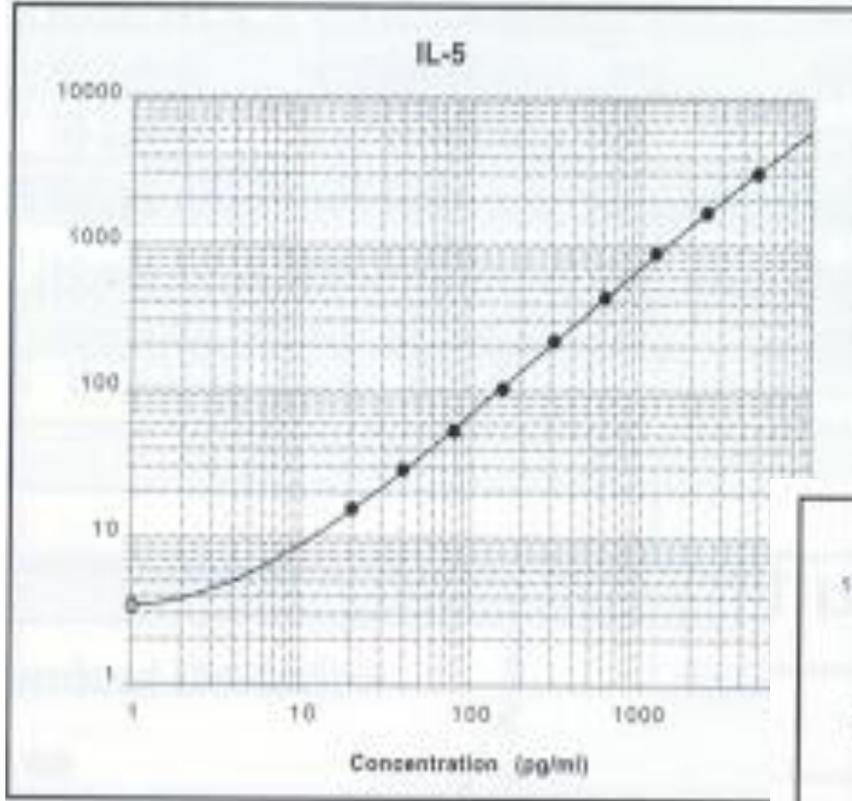
## Standars 625 pg/ml



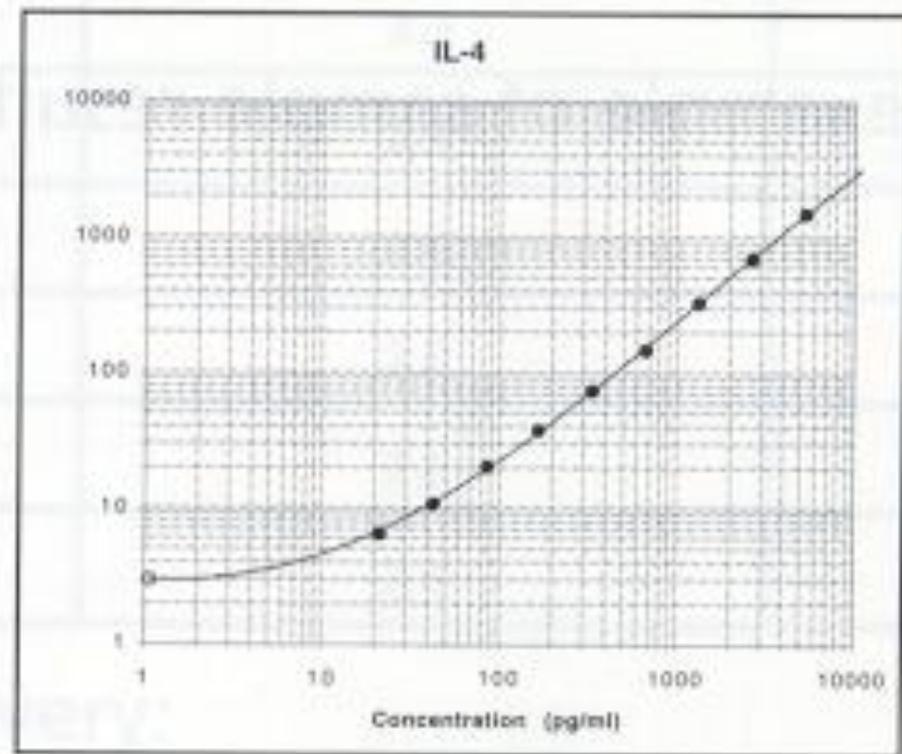
## Standars 5000 pg/ml



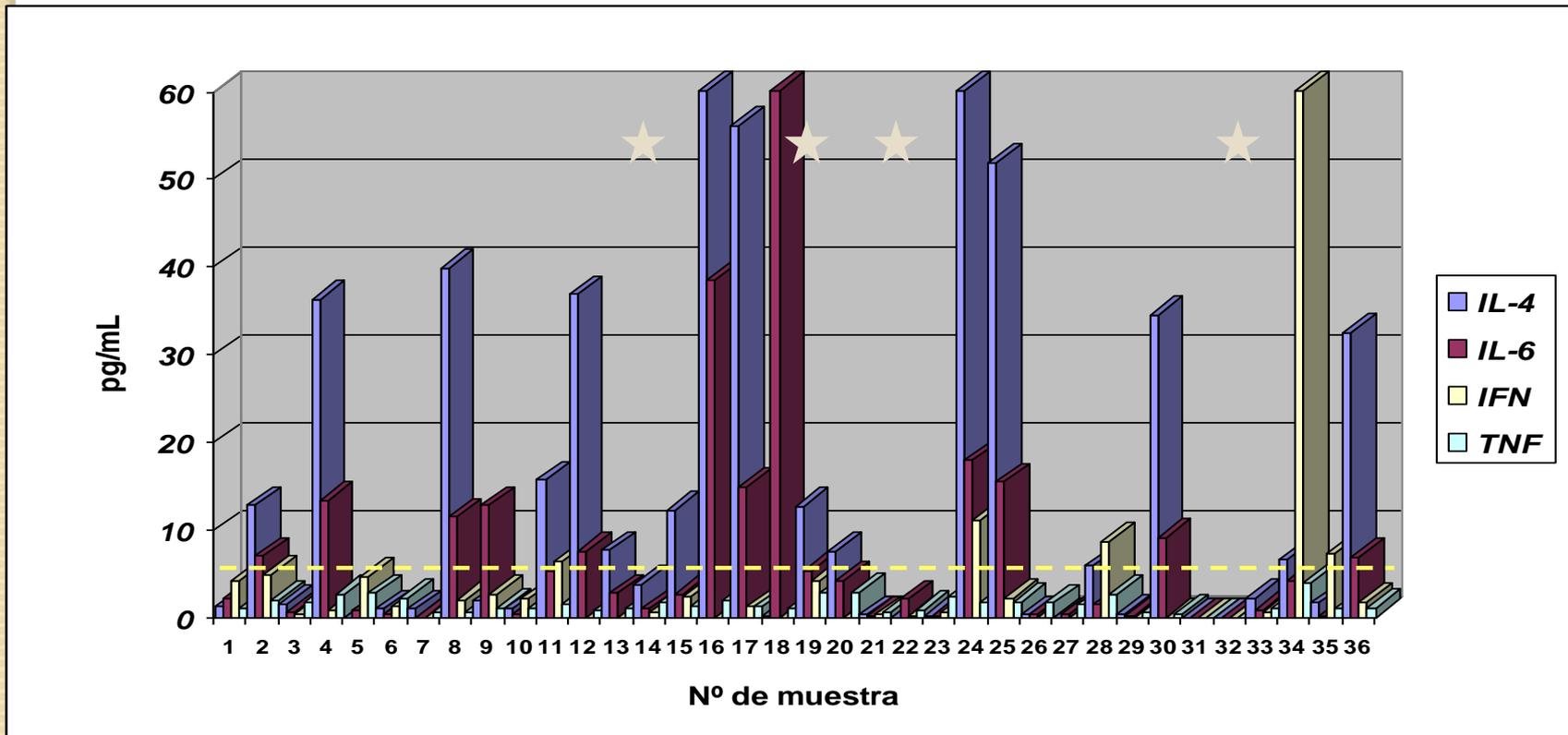
## Curva para IL5 (pg/mL)



## Curva para IL4 (pg/mL)



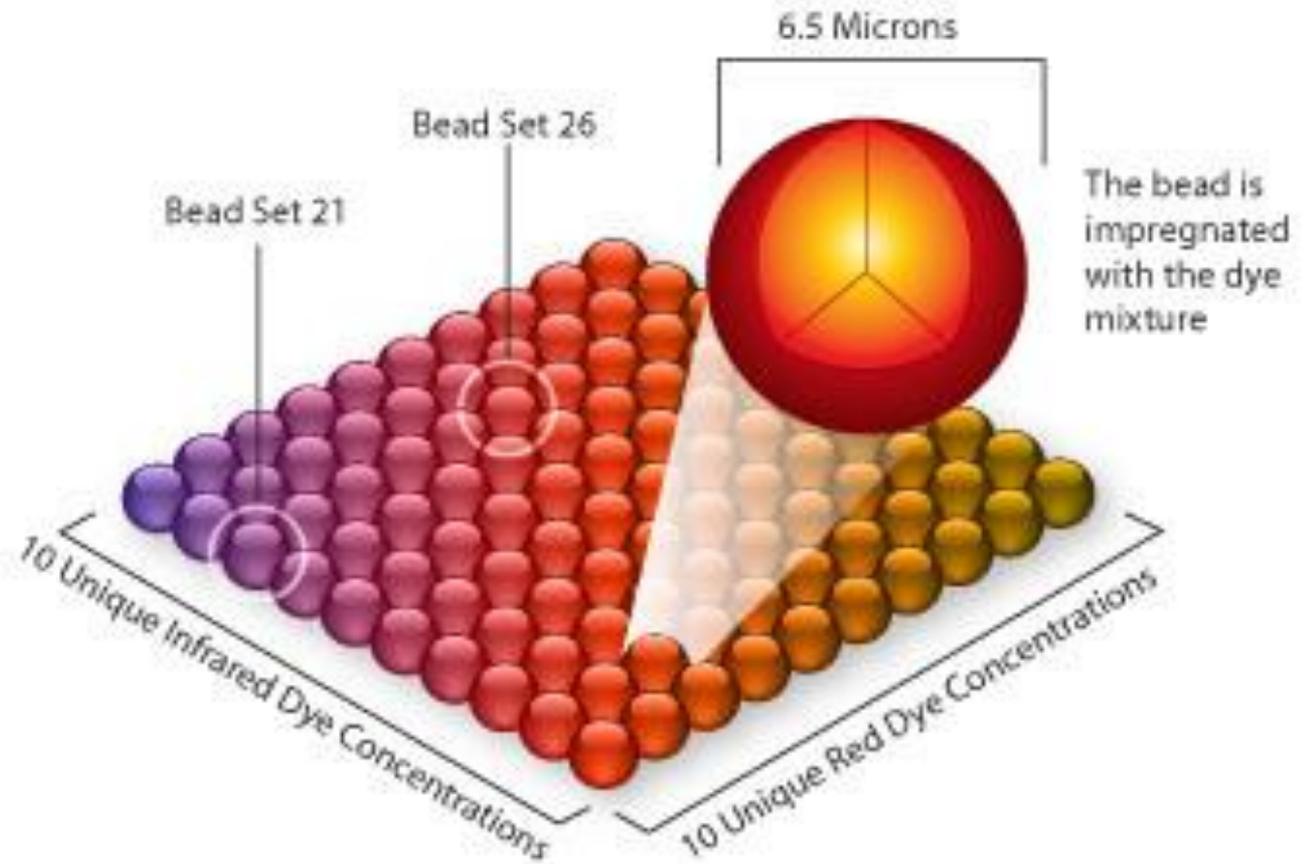
# VENTAJAS DE LA ALTA SENSIBILIDAD



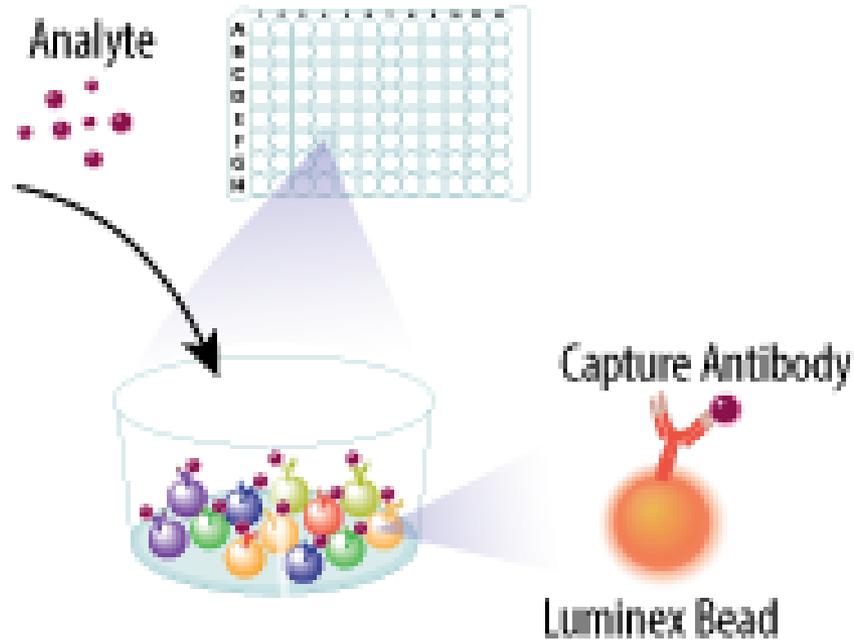
# LUMINEX



# LUMINEX

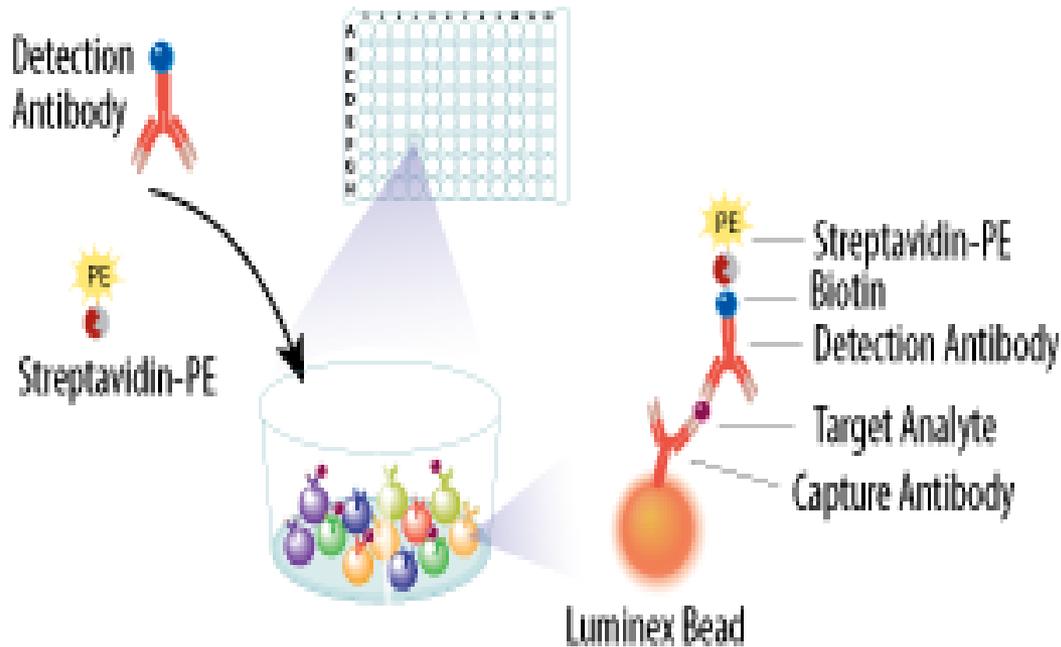


## STEP 1



The sample is added to a mixture of color-coded beads, pre-coated with analyte-specific capture antibodies. The antibodies bind to the analytes of interest.

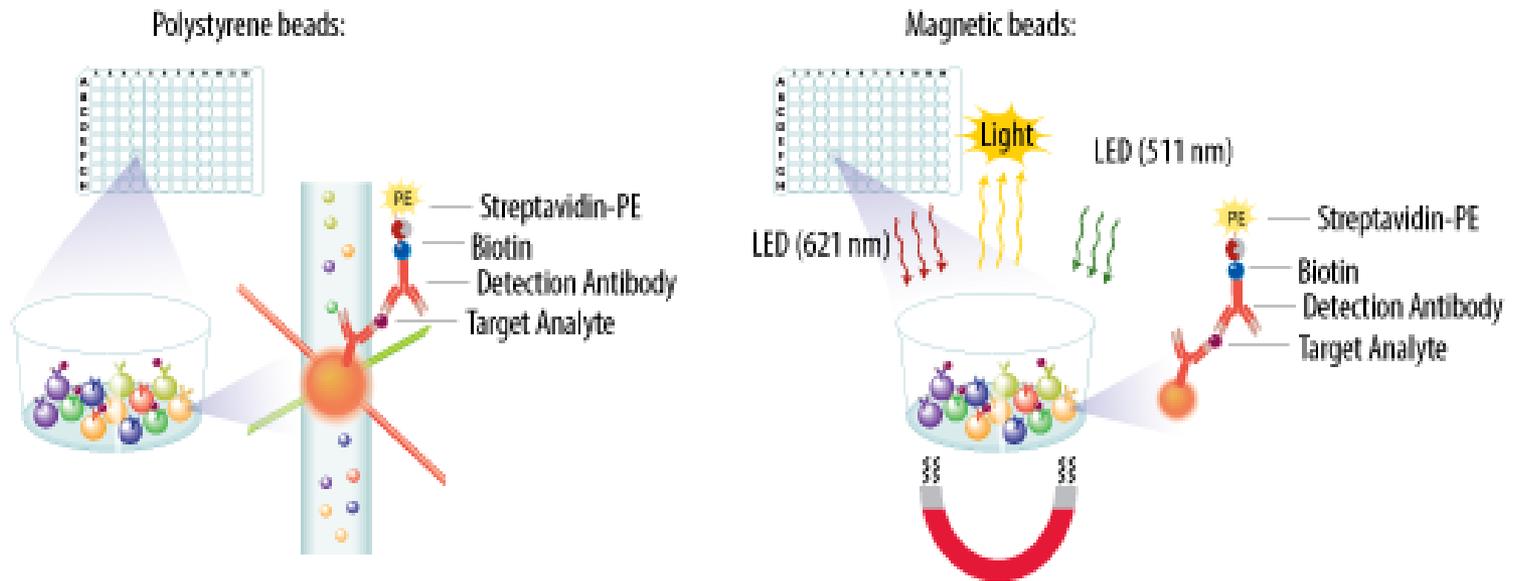
## STEP 2



Biotinylated detection antibodies specific to the analytes of interest are added and form an antibody-antigen sandwich. Phycoerythrin (PE)-conjugated streptavidin is added. It binds to the biotinylated detection antibodies.

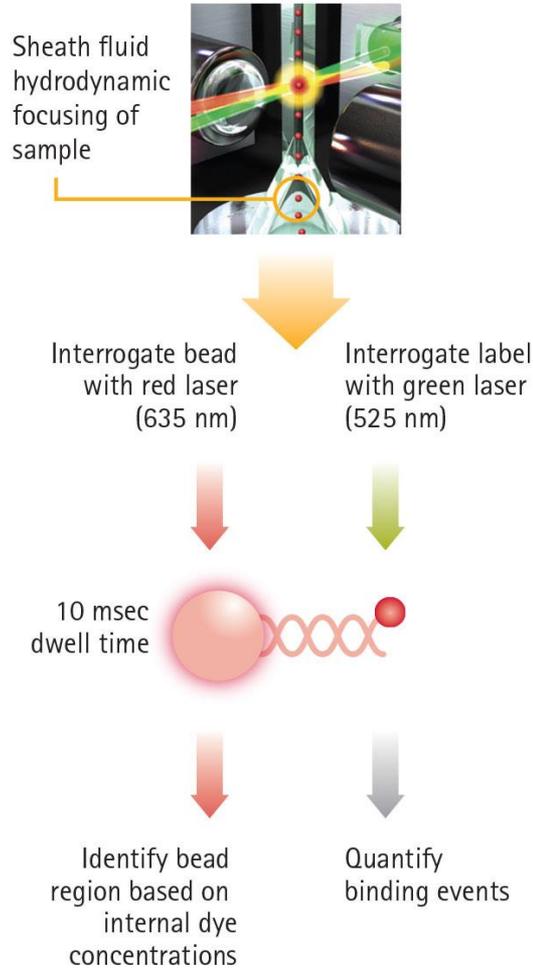
# LUMINEX

## STEP 3

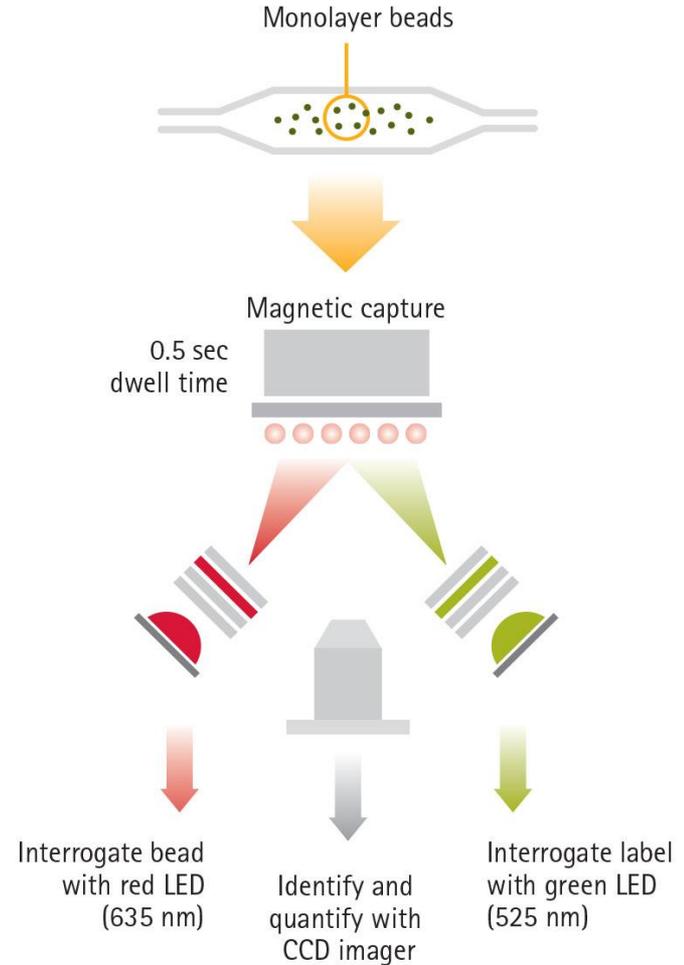


Polystyrene beads are read on a dual-laser flow-based detection instrument, such as the Luminex® 100™, Luminex 200™ or Bio-Rad® Bio-Plex® analyzer. One laser classifies the bead and determines the analyte that is being detected. The second laser determines the magnitude of the PE-derived signal, which is in direct proportion to the amount of analyte bound

## Flow cytometry-based analysis



## LED-based analysis



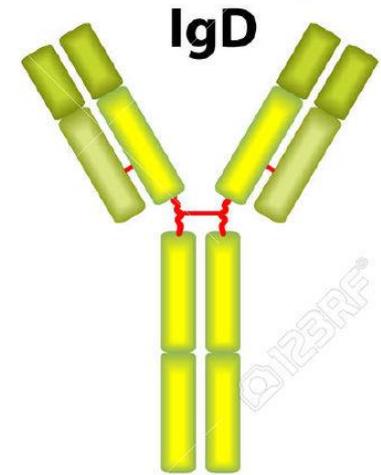
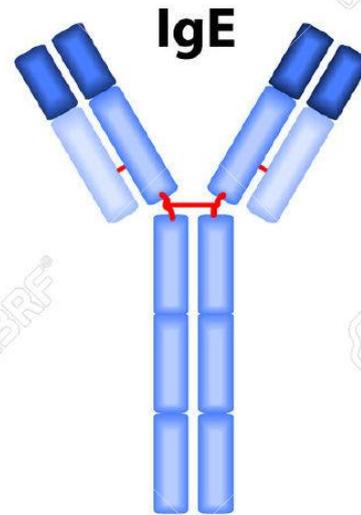
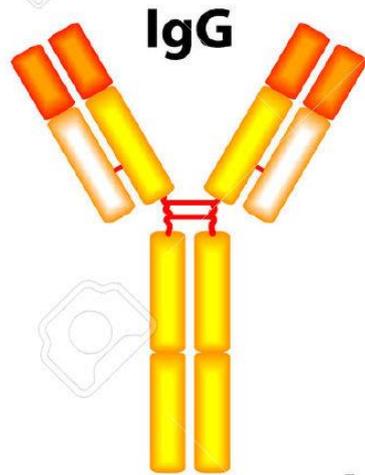
# LUMINEX

## Luminex Instruments

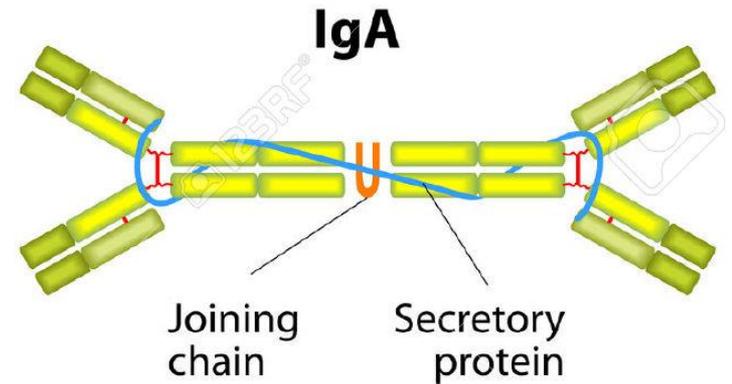
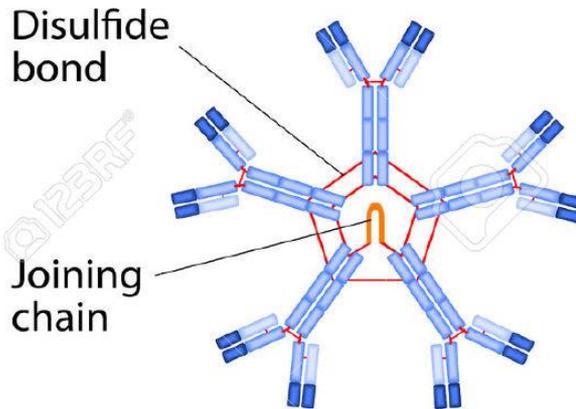
Software
Optic
Hardware
Bead Compatibility
Multiplex Capacity
Read Time
Applications
Dynamic Range
Microtiter Plate
Weight (Analyzer)

	MAGPIX®	Luminex 100®/200®	FLEXMAP® 3D®
			
Software	xPONENT 4.2	xPONENT 3.1	xPONENT 4.2
Optic	LED/CCD Camera	Lasers/APDs/PMTs	Lasers/APDs/PMTs
Hardware	Fluorescent Imager	Flow Cytometry based	Flow Cytometry based
Bead Compatibility	Magnetic	Magnetic and non-Magnetic	Magnetic and non-Magnetic
Multiplex Capacity	50	100 (80 for MagPlex)	500
Read Time	~60 mins 96 well plate	~40 mins 96 well plate	~20 mins 96 well plate
Applications	Protein/Nucleic Acid	Protein/Nucleic Acid	Protein/Nucleic Acid
Dynamic Range	3.5 logs	3.5 logs	4.5 logs
Microtiter Plate	96 well	96 well	96 well & 384 well
Weight (Analyzer)	17.5 kg (38.5 lbs.)	49 kg (113 lbs.)	77.1 kg (170 lbs.)

# INMUNOGLOBULINAS

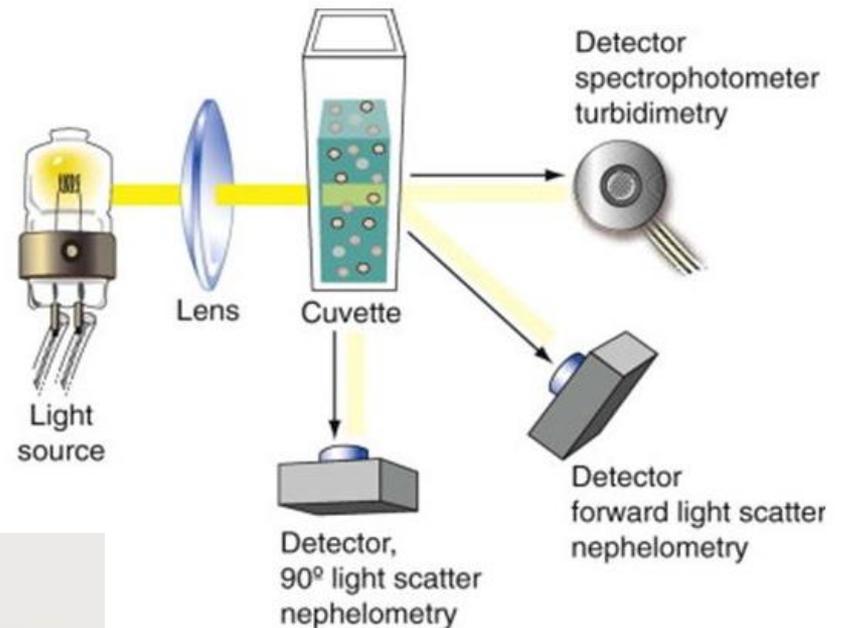
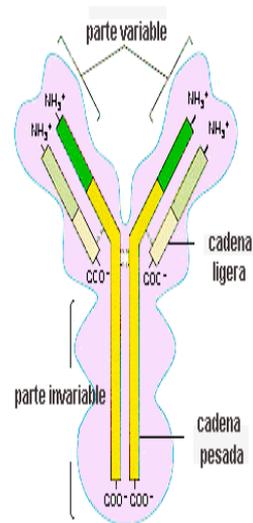


**IgM**



# NEFELOMETRÍA

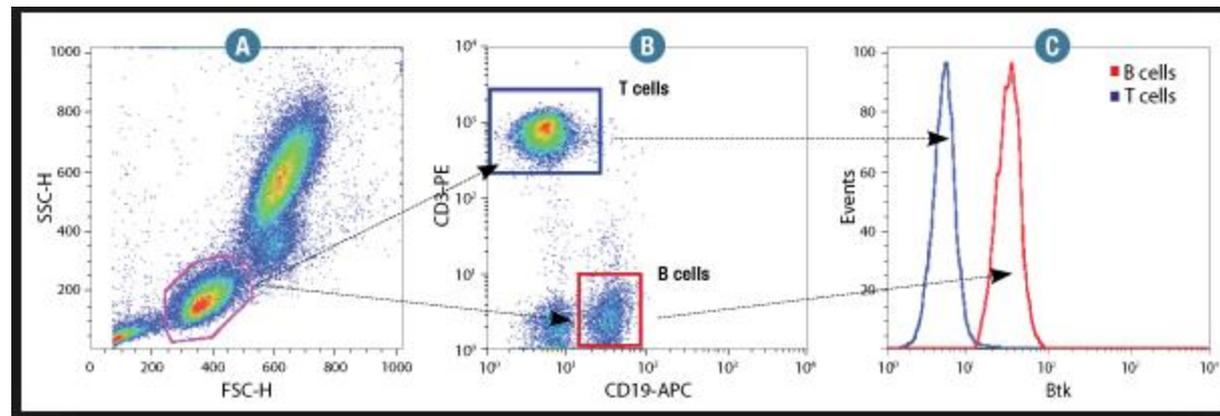
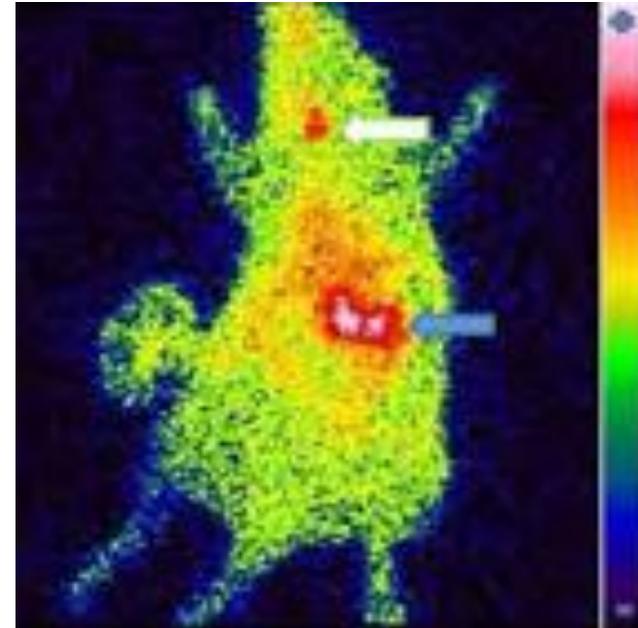
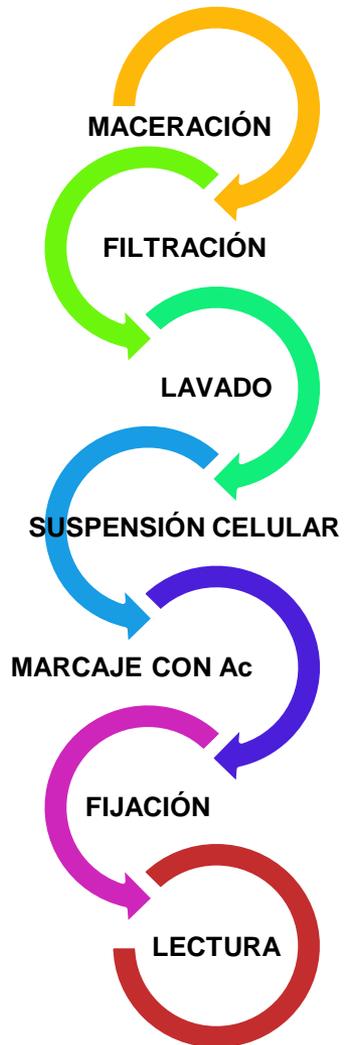
Determina el movimiento de partículas en suspensión (turbiedad), causada por la interacción de inmunoglobulinas presentes en el suero y la antiinmunoglobulina que ha sido agregada.



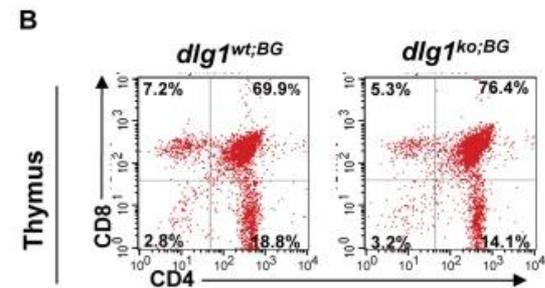
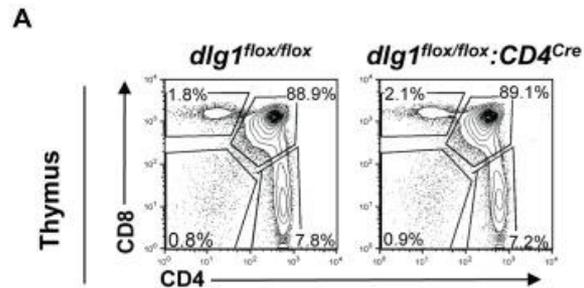
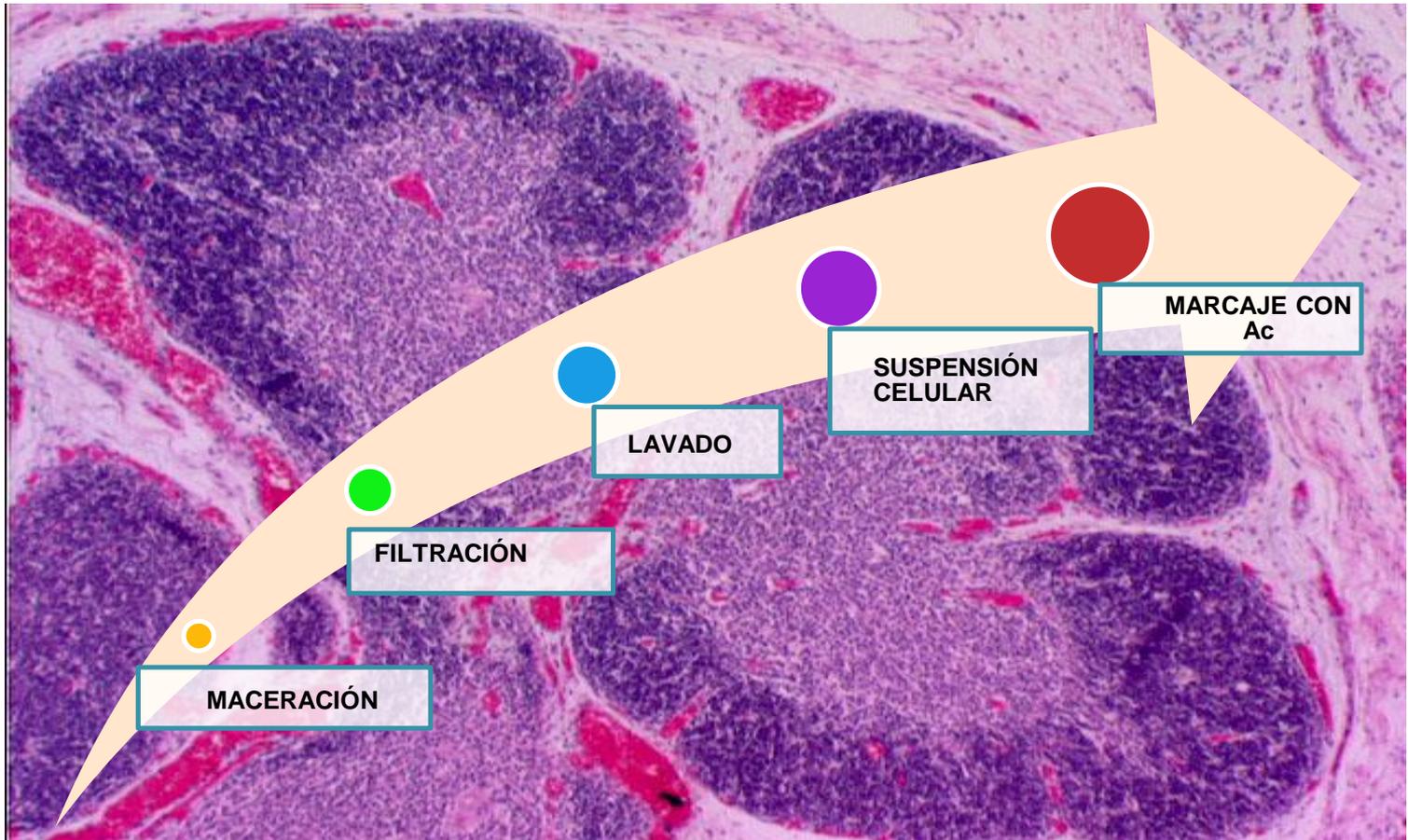


# ESTUDIO EN ANIMALES DE INVESTIGACIÓN

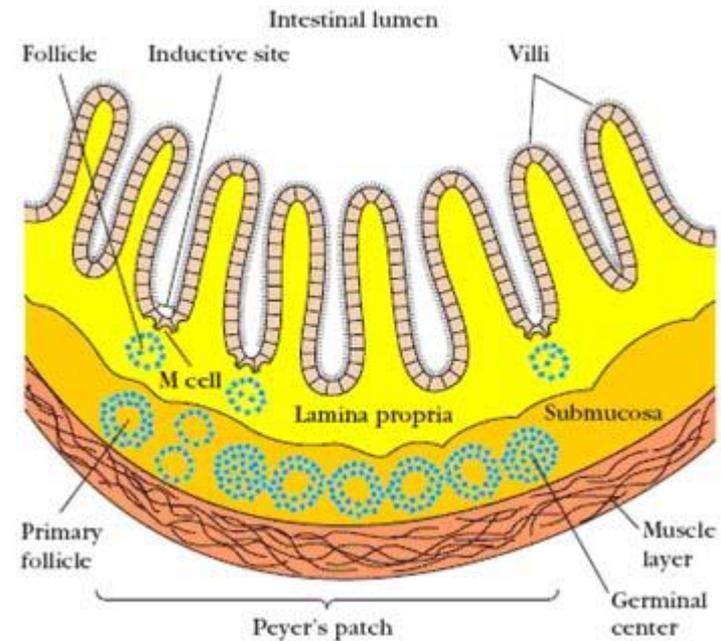
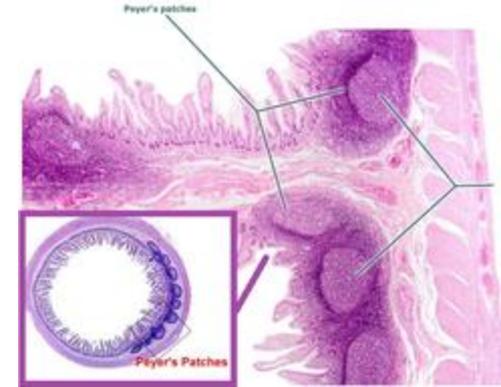
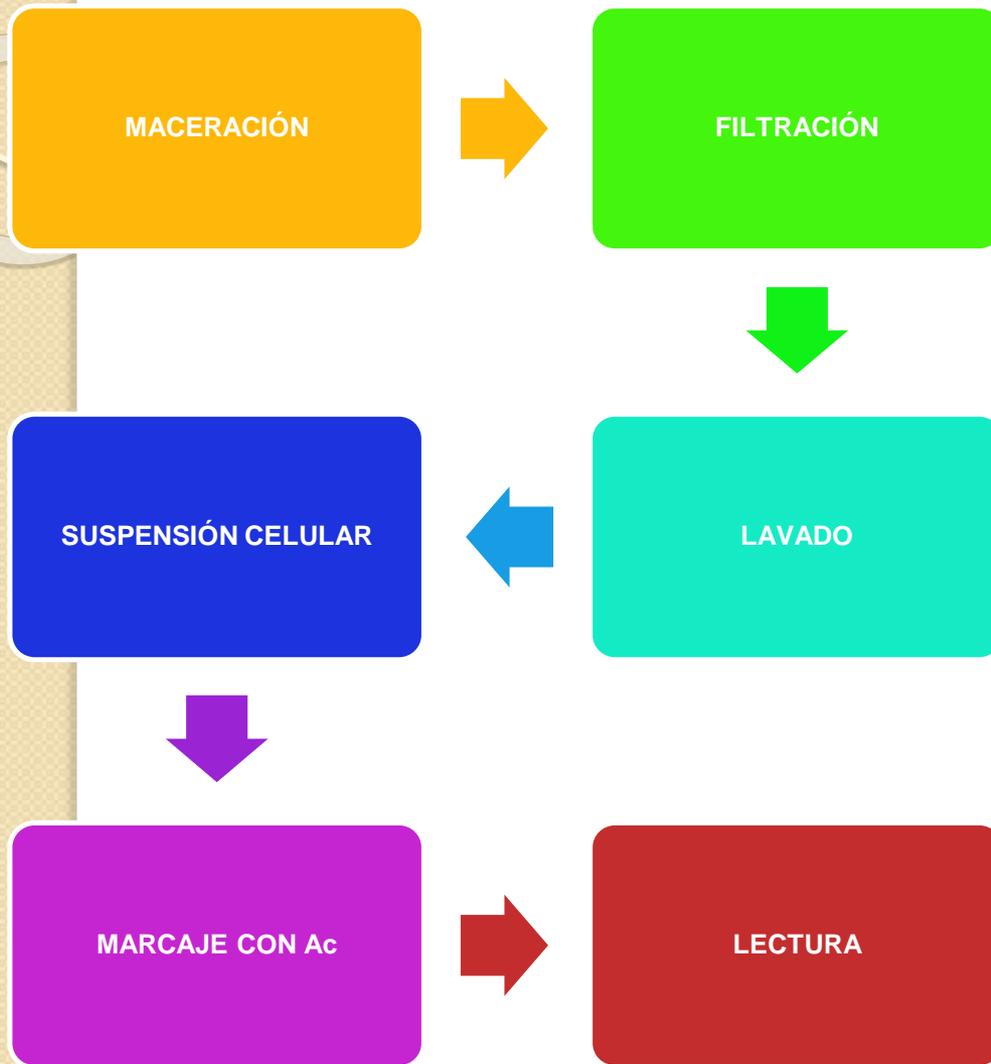
# ANÁLISIS CÉLULAS ESPLÉNICAS

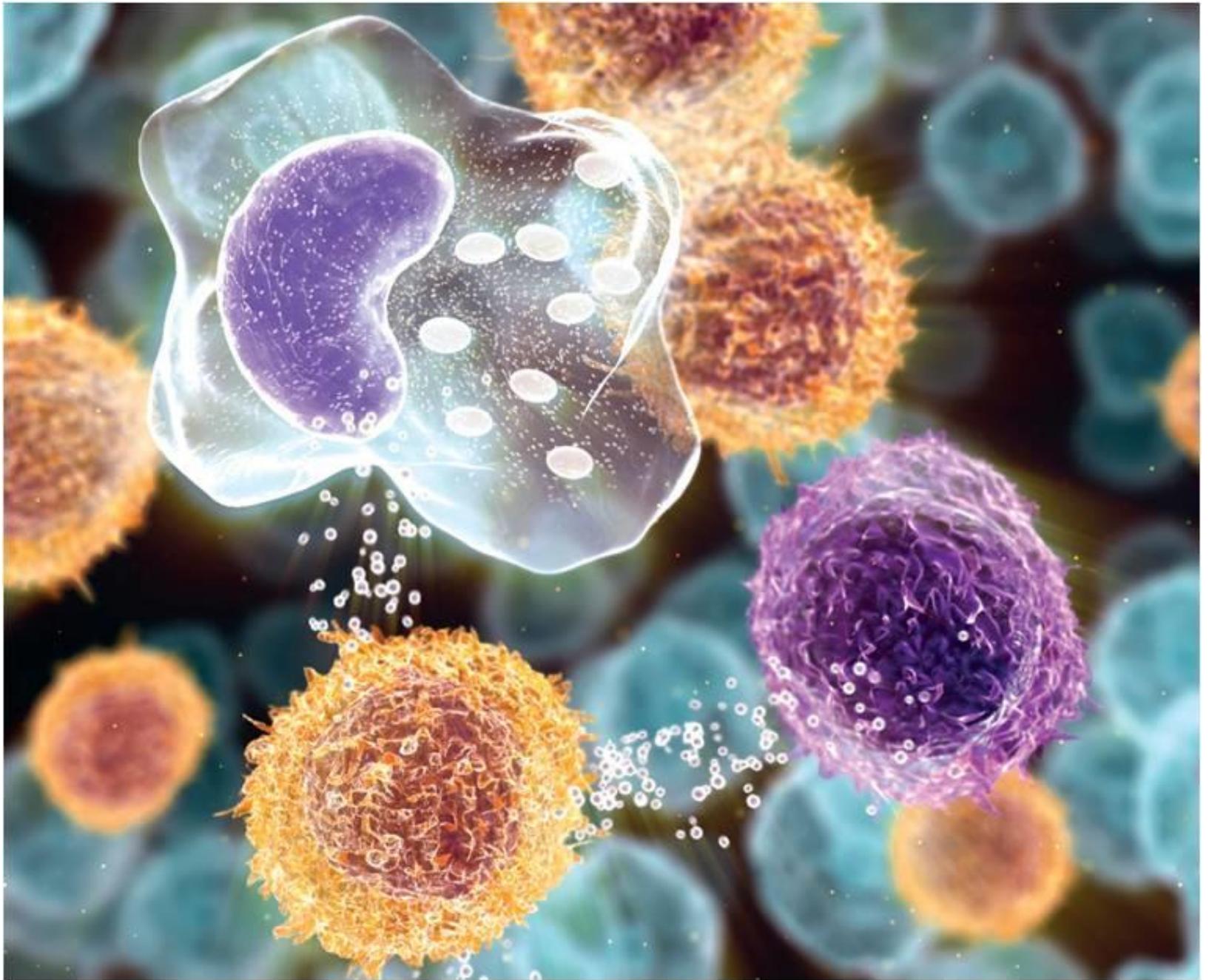


# ANÁLISIS CÉLULAS TÍMICAS



# ANÁLISIS CÉLULAR DE PLACAS PEYER





# HISTORIA NUTRICIONAL



**Determinación de la cantidad ingerida de todos y cada uno de los nutrientes, durante un periodo de tiempo que permita suponer que responde a la dieta habitual.**

**ENCUESTA DIETÉTICA**

**Refleja alimentos ingeridos durante un cierto número de días.**

**Se determinan los nutrientes mediante tablas de composición de alimentos**

**Se comparan con ingestas recomendadas u objetivos nutricionales**

# ENCUESTA DIETÉTICA

## 1 Evaluación del consumo familiar.

- Anotar alimentos comprados, producido en el hogar o recibidos como regalo durante un periodo de tiempo. Se deben estimar los desperdicios y los alimentos consumidos por el visitante

## 2. Evaluación del consumo individual

- Diario dietético
- Recordatorio de 24 horas
- Cuestionario de frecuencia



**RECUERDO DE 24 HORAS**

CÓDIGO

FECHA \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

NOMBRE Y APELLIDOS \_\_\_\_\_

<b>ALIMENTOS Y SUPLEMENTOS CONSUMIDOS</b>		
<b>DESAYUNO</b>	<b>ALIMENTOS</b> (Ingredientes del Menú)	<b>Cantidad (g) o tamaño</b> de las porciones
Hora de inicio:		
Hora de finalización:		
Lugar:		
Menú:		
<b>MEDIA MAÑANA</b>		
Hora de inicio:		
Hora de finalización:		
Lugar:		
Menú:		
<b>COMIDA</b>		
Hora de inicio:		
Hora de finalización:		
Lugar:		
Menú:		

**ALIMENTOS Y SUPLEMENTOS CONSUMIDOS**

<b>MERIENDA</b>	<b>ALIMENTOS</b> (Ingredientes del Menú)	<b>Cantidad (g) o tamaño</b> de las porciones
Hora de inicio:		
Hora de finalización:		
Lugar:		
Menú:		
<b>CENA</b>		
Hora de inicio:		
Hora de finalización:		
Lugar:		
Menú:		
<b>COMIDA ENTRE HORAS</b>		
Hora de inicio:		
Hora de finalización:		
Lugar:		
Menú:		















**HÁBITOS (SI, NO)**

¿Quitás la grasa visible de la carne?	No <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>	¿Evitas el consumo de mantequilla?	No <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>
¿Procuras comer mucha fibra?	No <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>	¿Procuras reducir el consumo de grasa?	No <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>
¿Procuras tomar mucha fruta?	No <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>	¿Procuras reducir el consumo de carne?	No <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>
¿Procuras tomar mucha verdura?	No <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>	¿Limitas la sal en las comidas?	No <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>
¿Procuras tomar mucho pescado?	No <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>	¿Le añades azúcar a algunas bebidas?	No <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>	Sí <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/>
¿Sueles comer entre comidas (picotear)?			¿Procuras reducir el consumo de dulces?		
¿Sigues una dieta especial?			Si has contestado Sí. Señalar el tipo de dieta:		
¿Quién te recomendó la dieta?:					

¿Cuántos días a la semana tomas fruta como postre?  0  1  2  3  4  5  6  7

¿Fumas?

- Sí  
 No  
 a veces  
 lo he dejado

¿Cuántos cigarrillos fumas al día?

- menos de 5  
 5 - 10  
 10 - 20  
 más de 20

¿Tomas café?

- Sí  
 No

Cantidad de tazas al día \_\_\_\_\_

¿Bebes alcohol?

- Sí  
 No

Que tipo de bebida \_\_\_\_\_

Cantidad al mes \_\_\_\_\_

# ESTUDIO ANTROPOMÉTRICO



Determinar las modificaciones en la constitución y composición corporal (porción magra y grasa) a través de medidas físicas de longitud y peso.



Método objetivo y no invasivo



Medidas relativamente sencillas, rápidas y económicas



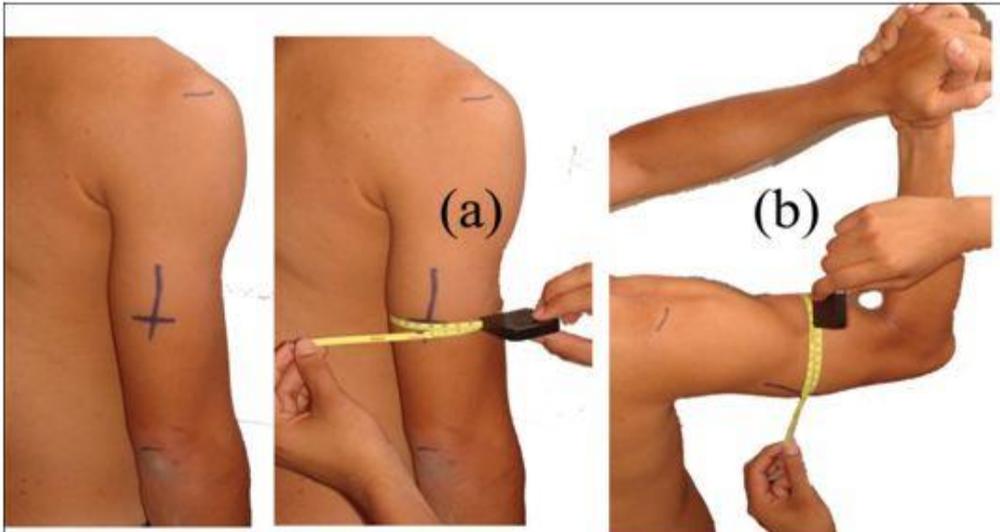
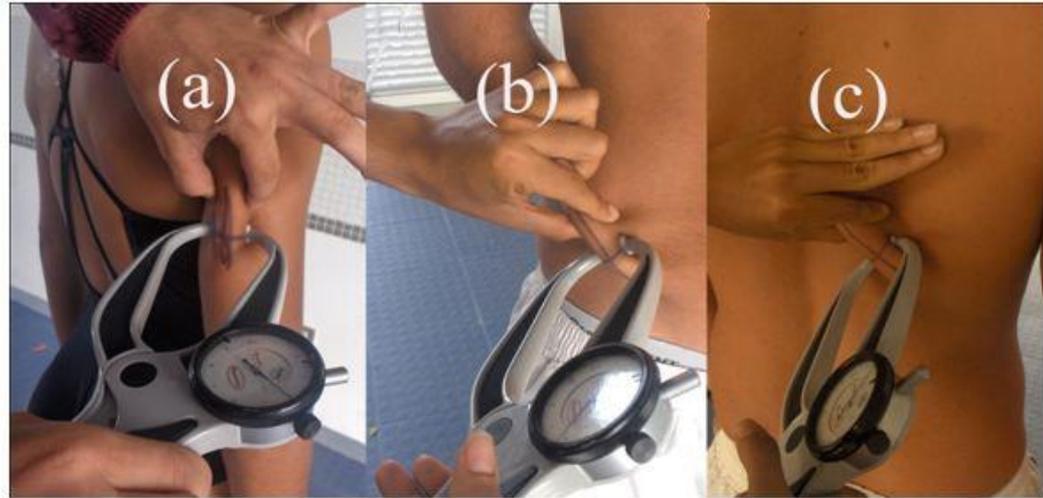
Reflejan cambios en la ingesta nutricional producidas a largo plazo



Los resultados deben evaluarse comparándolos con referencias estándares de acuerdo con la edad y el sexo.



# ANTROPOMETRÍA



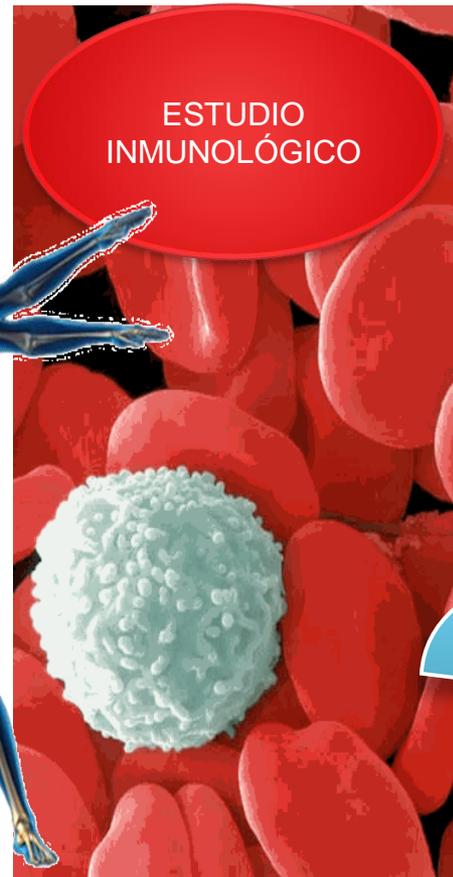
HISTORIA CLÍNICA

EXAMEN FÍSICO

HISTORIA DIETÉTICA

ESTUDIO ANTROPOMÉTRICO

ESTUDIO INMUNOLÓGICO



# INMUNONUTRICIÓN