



**Centro de Investigación en Alimentación y
Desarrollo, A.C.**

**EVALUACIÓN DE LA ADMINISTRACIÓN CONVENCIONAL
DE SOPORTE NUTRICIO ENTERAL A PACIENTES EN UNA
UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS**

Por:

Erika Nallely Ibarra Pastrana

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE NUTRICIÓN

Como requisito parcial para obtener el grado de

DOCTORA EN CIENCIAS

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Erika Nallely Ibarra Pastrana, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Doctora en Ciencias



Dra. Ana María Calderón de la Barca
Directora de Tesis




Dra. Aurora Elizabeth Serralde Zúñiga
Codirectora de Tesis



Dra. Verónica Mata Haro
Integrante de comité de tesis



Dra. Graciela Caire Juvera
Integrante de comité de tesis



Dra. Elizabeth Carvajal Millán
Integrante de comité de tesis

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis “Evaluación de la Administración Convencional de Soporte Nutricio Enteral a Pacientes en una Unidad de Cuidados Intensivos” es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial de la autora Erika Nallely Ibarra Pastrana, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director(a) de tesis.



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.**
Coordinación de Programas Académicos

Dr. Pablo Wong González
Director General

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT, por mantener un programa de Doctorado en Ciencias de calidad internacional.

Al CIAD, por sus valores como institución. Pero sobre todo a su personal, administrativos, docentes, técnicos, mantenimiento, limpieza. Todos y cada uno, hacen posible nuestra formación profesional.

A la UNIVERSIDAD DE SONORA por el apoyo brindado para realizar mis estudios de posgrado. La beca doctoral me permitió realizar una estancia de investigación, además de asistir a congresos nacionales e internacionales. Estas experiencias, me han dejado una huella tanto a nivel profesional como personal.

Al Laboratorio de Proteínas de la Coordinación de Nutrición, por financiar los costos de este proyecto, con recursos propios. Más importante, gracias al equipo de trabajo René y Adriana por su gran apoyo y amistad durante estos 4 años.

A los pacientes y sus familiares que nos concedieron la autorización para el desarrollo de este trabajo. Asimismo, al Hospital General del Estado de Sonora por abrirnos las puertas. Especialmente a la Dra. Susana Pérez, jefa de la Unidad de Cuidados Intensivos y a todo el personal que ahí labora, por darnos todas las facilidades y apoyo durante la realización del estudio.

A mis asesoras, grandes mujeres a las que admiro: Dra. Serralde, muchas gracias por compartir su conocimiento, gracias por abrirme las puertas en el Servicio de Nutriología Clínica en el INCMNSZ; sobre todo, le agradezco por estar pendiente de mí. Dra. Mata, gracias a usted sé un poquito de inmunología, le agradezco el tiempo que nos dedicó y el apoyo en su laboratorio. Dra. Caire, gracias por brindarme su apoyo y conocimiento, sus enseñanzas me serán muy útiles. Dra. Carvajal, le agradezco su paciencia, su tiempo para enseñarme y las facilidades en su laboratorio.

Especialmente, quiero agradecer a la persona que constituye un verdadero pilar en mi vida profesional y la verdadera creadora de esta tesis, mi Directora de Tesis, Dra. Ana María. Fue ella quien creyó en mí y me dio la oportunidad de cumplir este sueño y no tengo palabras para expresar lo agradecida que estoy. Ha sido muy gratificante trabajar a su lado, su gran talento y

generosidad me confirman que no he podido tener mejor maestra y amiga.

A mis padres Rosalba y Jesús, son ellos quienes pusieron todos los medios llegar a esto, quienes siempre creyeron en mí y por ello solo puedo expresar mi infinito agradecimiento por su inagotable generosidad y amor. Gracias de todo corazón. Y junto a ellos, mis hermanos Xóchitl y Leonardo, quienes me acompañan a la distancia en cada paso que doy. ¡Gracias familia por tenerme en sus oraciones!

Mis amigos son parte importante de este trabajo, me acompañaron, soportaron y escucharon en los momentos más emocionantes y difíciles de esta travesía, por ello, gracias.

Han sido 4 años de experiencias, cuatro años de aprendizaje y vivencias. Una oportunidad única en la que viví miedos, alegrías y tristezas; entrelazados con el día a día, con la vida en sí. Sé lo afortunada que soy y por ello doy gracias. ¡Gracias a Dios!

DEDICATORIA

Dedico este trabajo mi madre Rosalba, por su apoyo y amor incondicional. Tus oraciones guían mi camino mamá.

Y

A Óscar, que aunque nos perdimos en el camino, fuiste y serás siempre parte de mí.

CONTENIDO

APROBACIÓN.....	2
DECLARACIÓN.....	3
AGRADECIMIENTOS.....	4
DEDICATORIA.....	6
RESUMEN.....	8
ABSTRACT.....	9
SINOPSIS.....	10
CONCLUSIONES.....	16
1. POOR NUTRITIONAL STATUS AT HOSPITAL ADMISSION IMPACTS SURVIVAL OF CRITICALLY ILL PATIENTS.....	17
2. DÉFICIT ENERGÉTICO Y PROTEICO CRÍTICO CON GRAN APORTE DE CALORÍAS PROVENIENTES DE FÁRMACOS TRAS UNA SEMANA EN UNA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS.....	36
3. CYTOKINE PROFILE MEASUREMENT BY FLOW CYTOMETRY IN CRITICALLY ILL PATIENTS.....	44
4. ARE PROTEIN SOURCES FOR FOOD INDUSTRIALIZATION SUITABLE FOR ENRICHMENT OF MEDICAL ENTERAL FORMULAS?.....	57

RESUMEN

Los pacientes críticos sufren pérdida masiva de masa muscular que puede desacelerarse con un tratamiento nutricional adecuado y oportuno con énfasis en el aporte proteico. Sin embargo, las fórmulas enterales hiperproteicas y los módulos proteicos para enriquecer las fórmulas enterales estándar, tienen baja disponibilidad comercial y son muy caras. El objetivo del estudio fue evaluar la terapia nutricia enteral (TNE) administrada a los pacientes críticos en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) del Hospital General del Estado de Sonora (HGES) y sustentar cambios para mejorar la TNE. Se analizaron ingresos y patologías del año previo al estudio, para fundamentar criterios y tamaño de la muestra de estudio. Se evaluaron todos los pacientes incluibles, en cuanto a severidad, composición corporal, estimación de la adecuación nutricia en aquellos que permanecieron ≥ 7 días y cuantificación de citocinas pro-inflamatorias. Se analizaron costos, propiedades fisicoquímicas y nutricias de ingredientes proteicos de la industria alimentaria, como alternativas a los módulos proteicos de uso clínico. Ingresaron a la UCI 190 pacientes promedio por año, principalmente por traumatismo, la mayoría en riesgo de desnutrición. La probabilidad de supervivencia fue menor para los de bajo peso que para los de sobrepeso u obesidad. Los 26 pacientes en seguimiento, con riesgo de desnutrición, presentaron déficit energético moderado (-400 a-800 kcal/día) pero déficit proteico crítico (> 21 g /día). Las citocinas IL-6, IL-8 e IL-10 aumentaron entre el día 1 y el 7 en pacientes más graves. El análisis de ingredientes proteicos de la industria alimentaria los encontró 6 veces menos caros que los módulos proteicos clínicos y un aislado de proteína sérica fue comparable a los módulos de uso clínico en algunas propiedades, pero con mejor solubilidad y excelente calidad sanitaria; puede ser una alternativa “casera” para uso en una UCI. En conclusión, los pacientes no reciben una adecuada nutrición enteral y presentan déficit crítico de proteínas. Hay fuentes proteicas alternativas asequibles y seguras para añadir a fórmulas enterales estándar, y así alcanzar los requerimientos proteicos, aplicando protocolos adecuados.

Palabras clave: Soporte nutricional enteral, Pacientes críticos, Unidad de cuidados intensivos.

ABSTRACT

Critically ill patients lose massively muscle mass, and it could be slowed down by adequate nutritional treatment with an emphasis on protein intake. However, high-protein enteral formulas and protein modules to enrich standard enteral formulas are quite expensive and commercially scarce. The objective of the study was to evaluate enteral nutritional therapy (ENT) of critically ill patients in the Intensive Care Unit (ICU) of the General Hospital of the State of Sonora (HGSES) and provide changes to improve ENT. The ICU patients' admission and their pathologies one year before the study were analyzed to support the inclusion criteria and sample size. All the patients hospitalized in ICU for ≥ 7 days were evaluated for disease severity, body composition, estimation of nutritional adequacy, and pro-inflammatory cytokines level. Costs, physicochemical and nutritional properties of protein ingredients for the food industry were analyzed as alternatives to protein modules of clinical use. The ICU admitted 190 patients per year, mainly due to trauma, most at risk of malnutrition. The probability of survival was lower for those with low weight than for those with overweight or obesity. The total followed patients were 26 at risk of malnutrition, showed moderate energy deficit but critical protein deficiency. Cytokines IL-6, IL-8, and IL-10 increased between days 1 and 7 in more severe patients. The protein ingredients of the food industry were 6 times less expensive than clinical protein modules and a whey protein isolate was comparable to clinical use modules in some properties, but with better solubility and excellent sanitary quality; it could be an accessible 'home-alternative' for use in an ICU. In conclusion, patients do not receive adequate enteral nutrition and suffer critical protein deficiency. There are affordable and safe alternative protein ingredients to add to standard enteral formulas, to reach protein requirements with appropriate protocols.

Keywords: Enteral nutritional support, Critically ill patients, Intensive care unit.

SINOPSIS

El paciente crítico sufre una patología grave que condiciona la función de uno o varios órganos y por lo tanto, requiere de cuidados intensivos. Los pacientes en dichas condiciones muestran una respuesta fisiológica marcada por un incremento en el gasto metabólico y adecuación en la utilización de sustratos energéticos, a expensas de las reservas de la masa muscular y del tejido adiposo. Su catabolismo es acelerado, con pérdidas de hasta 1 kg de masa muscular al día; lo que no solo compromete al músculo esquelético sino también al músculo visceral y con ello, estructuras vitales. En países en vías de desarrollo la prevalencia de desnutrición en el paciente crítico es hasta del 72% (Bucay et al., 2017).

La desnutrición hospitalaria se asocia con el incremento de la morbi-mortalidad, alarga la estancia hospitalaria e incide en los reingresos al hospital. Conforme avanzan los días de estancia hospitalaria, incrementa el riesgo de deterioro nutricional, especialmente por insuficiente aporte energético-proteico. De allí la importancia de las propuestas para mejorar la nutrición y así aumentar la supervivencia de los pacientes críticos, reducir sus días de estancia en la UCI y hasta disminuir costos de atención.

Parte esencial del tratamiento médico es la Terapia Nutricional (TN), diseñada para proveer los nutrientes necesarios y preservar las reservas de masa muscular. Aunque es imposible compensar las pérdidas en condiciones críticas de hipercatabolismo, es viable minimizarlas aportando la cantidad de nutrientes óptima, específicamente los de mayor impacto en la reducción del catabolismo, como son las proteínas.

El primer paso a seguir al establecer las metas de la TN, es evaluar el requerimiento energético. De acuerdo a Heyland et al. (2011), la cantidad óptima de energía para obtener los mayores beneficios es al menos el 70% del requerimiento calórico total. En cuanto a proteína, que juega un papel protagónico en la TN, su calidad está determinada no solo por la proporción en la fórmula enteral (FE), sino también por su composición de aminoácidos, indispensables o no, y su biodisponibilidad. Así, en gran medida la eficiencia clínica de la FE depende del tipo y cantidad de su proteína.

Las guías de práctica clínica actuales marcan los lineamientos para la administración de la TN en los pacientes críticos. Sin embargo, no hay evidencia publicada sobre las prácticas clínicas

nutricias a nivel hospitalario, en el Estado de Sonora. En mi experiencia de 6 años trabajando en el Hospital General del Estado de Sonora, observé que no se cubren los gastos nutricios ni económicos que representa la TN de los pacientes, por lo que la gran mayoría de los que requieren nutrición enteral, son alimentados con FE estándar, provenientes de donaciones o adquiridas por el familiar a cargo. Las FE estándar aportan los nutrientes suficientes para una persona sana, mas no los requerimientos proteicos que presenta un paciente crítico. En el mercado, aunque con baja disponibilidad y muy altos costos, hay FE hiperproteicas, así como módulos de proteínas para enriquecer las FE estándar. Por esto, no son asequibles para la mayoría de pacientes o sus familiares.

Así, se destacan varios aspectos de un problema que requiere solución. Debiera ser obligación de la institución hospitalaria proveer una atención nutricional oportuna y adecuada, que contribuiría a mejorar las prácticas intrahospitalarias y con ello brindar mejor atención a nuestros pacientes. Para ayudar a fundamentar peticiones de cambios en la política, respecto a la inclusión de fórmulas enterales estándar y módulos de proteína suplementaria, primero se debe cuantificar el problema, saber hasta dónde incide en la morbi-mortalidad de los pacientes en la UCI. También puede ser una parte del problema, el protocolo seguido en la UCI para administrar la nutrición enteral a los pacientes críticos; no hay evidencia que muestre las ventajas o desventajas de los protocolos seguidos. Por último, es también problemático el no contar con alternativas menos caras para suministrar la proteína adecuada a los pacientes.

Con las premisas implícitas en la presentación del problema, se planteó la hipótesis: La administración convencional del soporte nutricio enteral en la UCI del Hospital General del Estado de Sonora, no se da acorde a las guías de práctica clínica actual y resulta insuficiente en el aporte energético/proteico.

Para contrastar la hipótesis, el objetivo general fue: Evaluar el grado en que la práctica convencional para administrar el soporte nutricio enteral en la UCI del Hospital General del Estado de Sonora, cubre los requerimientos energéticos y/o proteicos, de acuerdo a las guías de práctica clínica actual para paciente crítico y recomendar adecuaciones para el soporte nutricio. Además de sustentar posibilidades para mejorar la TNE.

Los objetivos particulares fueron: 1) Analizar las características de los pacientes en la UCI del Hospital General del Estado de Sonora durante un año, para considerar tamaño de muestra y tiempo de estudio de la adecuación nutricia practicada; 2) Evaluar la adecuación nutricia

energético-proteica alcanzada por la práctica convencional de administración del soporte nutricional enteral, así como la evolución del proceso inflamatorio; y 3) Evaluar la calidad nutricional, propiedades y costos de fuentes comerciales de proteína usadas en la industria alimentaria, para hacer recomendaciones de uso en el soporte nutricional enteral de una UCI.

Metodológicamente, se inició con el análisis de la información de ingresos y patologías en la UCI del Hospital General del Estado de Sonora durante el último año, y así establecer los criterios de inclusión y exclusión, y el tamaño aproximado del universo de estudio.

Posteriormente, se realizó un estudio de cohorte prospectivo de abril a octubre del 2019, periodo en el que ingresaron 132 pacientes a la UCI, de los cuales 91 no fueron candidatos para ingresar al grupo de estudio por distintos motivos, y 46 sí cumplieron los criterios de inclusión. De esos 42, solo a 26 se les pudo dar el seguimiento durante el periodo establecido (≥ 7 días). Las mediciones realizadas en los pacientes a su ingreso fueron: clasificación de severidad, de composición corporal, pruebas inmunoquímicas y metabólicas. Diariamente se evaluaron los parámetros bioquímicos, tolerancia a la dieta, aporte energético-proteico y estimación de requerimientos. A los 7 días de estancia se realizaron nuevamente pruebas de composición corporal, inmunoquímicas y metabólicas, y se estimó la adecuación nutricional alcanzada en el periodo. Asimismo, al ingreso y al día 7 se recolectaron muestras de suero para posteriormente cuantificar citocinas pro- y anti-inflamatorias, por citometría de flujo.

En paralelo, se buscaron fuentes proteicas alternativas de grado alimenticio, se evaluó su calidad nutricional y propiedades físico-químicas, así como los costos. Lo anterior, con el objetivo de ofrecer una opción segura y asequible para cubrir los requerimientos proteicos.

Los estudios para alcanzar los objetivos descritos, se encuentran distribuidos en 4 artículos que, junto con la sinopsis, integran esta tesis.

ARTÍCULO 1: Poor nutritional status at hospital admission impacts survival of critically ill patients. Enviado a la revista REVMEDUAS (Revista Médica de la Universidad de Autónoma de Sinaloa), en noviembre del 2021.

El contenido del artículo trata del seguimiento de los pacientes que ingresaron a la UCI del Hospital General del Estado de Sonora de agosto, 2017 a julio, 2018. El objetivo fue evaluar el estado nutricional al ingreso y su asociación con la supervivencia de pacientes críticos. La evaluación del estado nutricional se hizo con los valores de peso y talla, estimando el índice de

masa corporal (IMC) como parámetro para el diagnóstico nutricional; además se realizó el tamizaje nutricional Nutritional Risk Assessment (NRS-2002) para determinar el riesgo de desnutrición. Se recolectaron datos sociodemográficos, patología de ingreso, días de estancia en la UCI y el desenlace.

Al evaluar desnutrición al ingreso por $IMC < 18.5$, se encontró más alta prevalencia, que la de otros estudios en América Latina. Los pacientes en riesgo de desnutrición por NRS-2002 y los pacientes con $IMC < 8.5$ tienen menos probabilidad de supervivencia, al compararse con pacientes con diagnóstico de obesidad ($IMC > 30$). Los pacientes con sobrepeso u obesidad, presentan probabilidad de supervivencia del 50 y 70%, respectivamente.

Asimismo, los resultados de este estudio, arrojaron información para el diseño del marco teórico en estudios posteriores. Con estos datos se caracterizó la población blanco y con ello se determinó tamaño de muestras, los criterios de inclusión y exclusión; se dilucidaron las principales causas de ingreso y la supervivencia de los pacientes críticos ingresados a la UCI.

ARTÍCULO 2: Déficit energético y proteico crítico con gran aporte de calorías provenientes de fármacos tras una semana en una unidad de cuidados intensivos.

Publicado: Nutrición Hospitalaria 2022; 39(1):1-7; doi: [10.20960/nh.03734](https://doi.org/10.20960/nh.03734).

En este trabajo, se evaluó la terapia nutricia enteral (TNE) tal y como se administra a los pacientes críticos en la UCI del Hospital General del Estado de Sonora, para ello se les dio seguimiento desde su ingreso y los 7 días consecutivos. El objetivo fue evaluar la adecuación de la TNE para los pacientes. Para lograrlo, se registró a diario el aporte de nutrientes, incluyendo las calorías provenientes de fármacos, que posteriormente se comparó con los requerimientos estimados, de acuerdo a las guías de práctica clínica.

Se incluyeron mediciones antropométricas, de composición corporal, registro de pruebas de laboratorio y la recolección de muestras de sangre los días 1 y 7, para el análisis sérico de citocinas pro- y anti-inflamatorias.

Así, se pudo describir la población de una UCI en un país en vías de desarrollo, igual que sus prácticas de terapia nutricia enteral, complementando la información recolectada en el estudio del ARTÍCULO 1. Entre los principales hallazgos, se encontró un déficit crítico de proteínas en los pacientes estudiados, mucho mayor a lo publicado en otros estudios. Esta evidencia, muestra una ventana de oportunidades en el tratamiento nutricional de los pacientes críticos que

ingresan a esta UCI. Se pueden plantear futuros estudios para mejorar las prácticas, trabajando en conjunto y desde distintos ángulos la terapia nutricional.

ARTÍCULO 3: Cytokine profile measurement by flow cytometry in critically ill patients.

Enviado a la Revista Biomédica del Instituto Nacional de Salud de Colombia, en enero 2022.

Este artículo corto, muestra el comportamiento de citocinas pro- y anti-inflamatorias en distintas condiciones patológicas de pacientes en condiciones críticas. En su mayoría, los pacientes críticos presentan importantes alteraciones en el sistema inmune, que se caracteriza por una respuesta pro-inflamatoria agresiva en combinación con una respuesta anti-inflamatoria insuficiente, lo que lleva a la pérdida de homeostasis de la respuesta inmunitaria, que puede conducir a falla multi-orgánica.

En este estudio, la cuantificación de citocinas se realizó por citometría de flujo, una técnica poco utilizada en la práctica clínica, pero que presenta múltiples ventajas sobre las técnicas comunes. En el artículo, se muestran los valores de citocinas al día 1 y al día 7 en 26 pacientes críticos, con lo que se corroboró su heterogeneidad. Específicamente, Interleucina-1 (IL-1) y el Factor de Necrosis Tumoral-alfa (TNF α) son citocinas pro-inflamatorias que se presentan en la fase temprana, entre las primeras horas de la lesión, por lo que no se detectaron en nuestros pacientes. Por su parte, IL-6 reconocida como uno de los principales mediadores de la respuesta de fase aguda, aumenta su concentración en forma directa con la gravedad de la enfermedad y la disfunción en diferentes órganos. Las concentraciones más altas de Interleucina-6 (IL-6) en nuestro estudio, fueron las de los días 1 y 7.

De los hallazgos más importantes, fue lo encontrado en los valores de las citocinas IL-6, Interleucina-8 (IL-8) e Interleucina-10 (IL-10), mismas que aumentaron entre el día 1 y el 7 en pacientes gran quemados, politraumatizados, con neumonía o traumatismo cráneo-encefálico severo.

ARTÍCULO 4: Are the protein sources for food industrialization suitable for enrichment of medical enteral formulas? En revisión interna, ya en formato para enviarse a la revista antes del 21 de enero del 2022.

Nuestro interés por analizar distintas fuentes proteicas fuera de las que se emplean en la práctica clínica, nace de la necesidad de contar con más opciones seguras y asequibles. Como

parte de nuestra investigación, observamos que el mercado local es muy limitado, solo ofrece 3 módulos de proteína suplementaria (MPS) de uso clínico y 6 fórmulas enterales hiperproteicas. En cualquiera de los casos, las opciones representan un elevado costo para la población estudiada. Así, el objetivo fue analizar las propiedades de ingredientes proteicos utilizados en la industria alimentaria, en comparación con los suplementos para uso clínico más comunes en la región de estudio.

Se analizaron 3 MPS conteniendo caseína, 3 fuentes de proteína de suero de leche y 3 ingredientes proteicos de origen vegetal: de soya, de chícharo y de amaranto. Se evaluaron costos, contenido de proteína, perfil de aminoácidos, reología, digestibilidad *in vitro*, solubilidad y calidad sanitaria de los productos, además de perfil electroforético y contenido de lactosa de las fuentes de proteínas de leche de vaca. En general las fuentes analizadas, tanto concentrados como aislados, contenían más de 80% de proteína, excepto la de amaranto con <30%. La solubilidad de las fuentes de proteína de suero fue mejor que la de las MPS conteniendo caseína y un aislado de soya, en pH 5.5-7.5; los concentrados de amaranto y chícharo, presentaron muy baja solubilidad. Las fuentes de proteínas lácteas estaban electroforéticamente puras, con excelente digestibilidad y calificación de aminoácidos, mientras que las de origen vegetal, fueron limitadas.

Un aislado de proteína de suero comercial fue comparable a los MPS de uso clínico en diferentes propiedades, pero con mejor solubilidad, <1% de lactosa y excelente calidad sanitaria; puede ser una alternativa accesible por su costo moderado, para uso en una UCI con pocos recursos.

CONCLUSIONES

La hipótesis planteada en la tesis pudo contrastarse por completo, la administración del soporte nutricional enteral en la UCI del Hospital General del Estado de Sonora, no se da acorde a las guías de práctica clínica actual y resulta insuficiente en el aporte energético/proteico, con déficit crítico de proteínas. La forma en que se llegó a la contrastación, se detalla en los párrafos subsecuentes.

Previo al COVID-19 cuando se gestó el presente estudio, se encontró que ingresaban a la UCI del Hospital General del Estado de Sonora, 190 pacientes promedio por año. La causa principal del ingreso era traumatismo y un 6.8% ingresaba con desnutrición, lo que disminuyó sus probabilidades de supervivencia a 10 días, comparando con los pacientes con sobrepeso u obesidad. Esta información, sustentó la propuesta de investigación sobre la necesidad de evaluar el efecto del soporte nutricional enteral en los pacientes críticos, de por sí en hipercatabolismo. Además, sustentó el cálculo del tamaño de muestra y el periodo máximo de estancia, de los pacientes que se podían incluir en la terapia de nutrición enteral.

Durante varios meses se evaluó la adecuación de la terapia nutricional enteral, incluyendo a todos los pacientes ingresados a la UCI, a quienes se administró este tipo de alimentación. De todos los incluidos, 26 permanecieron en la UCI por al menos 7 días; fue una población en su mayoría de hombres, de 42 años promedio, con riesgo de desnutrición al ingreso. La mitad de los pacientes cubrió el requerimiento óptimo de energía al día 4 de estancia en la UCI; no obstante, el aporte de proteínas fue críticamente deficiente en todos los casos, con desbalance de macronutrientes y proceso inflamatorio grave. Éste, se vio reflejado en el incremento de las citocinas IL-6, IL-8 e IL-10 entre el día 1 y 7 en pacientes gran quemados, politraumatizados, con neumonía o traumatismo craneoencefálico.

Debido al bajo contenido proteico de las fórmulas enterales estándar, se buscaron en la industria alimentaria, alternativas asequibles a los módulos de proteína de uso clínico, para enriquecerlas. Esto porque tanto las fórmulas hiperproteicas como los módulos proteicos de uso clínico, son excesivamente caros. Se analizaron concentrados y/o aislados de proteínas de leche, así como vegetales. Así, se encontró que en la industria alimentaria hay ingredientes proteicos que podrían ser ventajosos en costo y beneficios, para una nutrición enteral adecuada, de los pacientes críticos.

ARTÍCULO 1

Artículo de investigación original, enviado a una revista indizada en el listado Conacyt.

7/12/21 12:09

Correo de Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. - Envío de Manuscrito



Erika Nayelli Ibarra Pastrana <erika.ibarradc18@estudiantes.ciad.mx>

Envío de Manuscrito

FRED MORGAN-ORTIZ <fmorganortiz@hotmail.com>

2 de noviembre de 2021, 16:57

Para: Erika Nayelli Ibarra Pastrana <erika.ibarradc18@estudiantes.ciad.mx>

Estimada Dra. Ibarra-Pastrana, gracias por considerar la REVMEDUAS para la publicación de su trabajo.
En cuanto tengamos un dictamen sobre el se lo haremos llegar por esta misma vía.
Por su atención, Gracias

Dr. Fred Morgan Ortiz
Editor
REVMEDUAS

1. POOR NUTRITIONAL STATUS AT HOSPITAL ADMISSION IMPACTS SURVIVAL OF CRITICALLY ILL PATIENTS

¹Ibarra-Pastrana, Erika (PhDc), ¹Caire-Juvera G (PhD), ¹Calderón de la Barca AM* (PhD).

¹Nutrition Department, Research Center for Food and Development. Carr. Astiazarán Rosas No. 46. Col. La Victoria, Hermosillo 83304, Sonora, Mexico.

*Corresponding Author: Ana María Calderón de la Barca

Research Center for Food and Development

Carretera Astiazarán Rosas No. 46. Col. La Victoria, Hermosillo 83304, Sonora, Mexico.

Phone: 52+ 662 2892400 ext. 306

Email: amc@ciad.mx

Conflicts of Interest and Source of Founding

Authors have nothing to declare. Financial support was not necessary.

Short Title

Survival in critical illness

ABSTRACT

Objective. To examine the impact of nutritional status and nutritional risk at admission on survival of critically ill patients. **Methods.** A follow-up study was conducted for one year including the patients admitted to an intensive care unit. Anthropometric measurements, nutritional screening at admission, type of nutritional therapy, days of hospital stay and outcome were registered. **Results.** 191 patients were admitted. According to body mass index, 6.8% fell in underweight category, 33% normal weight, 39.2% overweight and 21% obese. Cox regression showed a relationship between NRS-2002 score and survival (HR: 1.25, 95% CI: 1.03-1.52). The survival probability was less than 10 days for underweight patients. **Conclusion.** Underweight critically ill patients have a greater risk of suffering negative outcomes. In addition, the malnutrition risk is a hazard factor for mortality.

Keywords: Body Mass Index, Nutritional Risk, Alieving, Critical Illness, Intensive Care Unit.

RESUMEN

Objetivo. Evaluar el impacto del estado nutricional y el riesgo de desnutrición al ingreso en la supervivencia de pacientes críticos. **Material y métodos.** Se diseñó un estudio de seguimiento durante un año que incluyó a los pacientes ingresados a una unidad de cuidados intensivos. A su ingreso, se realizaron mediciones antropométricas y un tamizaje nutricional; posteriormente se registró el tipo de terapia nutricional, días de estancia hospitalaria y el desenlace del paciente. **Resultados.** Ingresaron 191 pacientes durante el seguimiento. De acuerdo al índice de masa corporal, 6.8% presentaron bajo peso, 33% normopeso, 39.2% sobrepeso y 21% fueron obesos. La regresión de Cox mostró una relación entre el tamizaje NRS-2002 y la supervivencia de los pacientes (HR: 1.25, 95% CI: 1.03-1.52). La probabilidad de supervivencia fue menor a los 10 días en los pacientes con bajo peso. Asimismo, las mujeres mostraron mayor probabilidad de supervivencia que los hombres. **Conclusión.** Pacientes críticos con peso bajo a su ingreso presentan mayor riesgo de desenlaces negativos y paradójicamente, la obesidad parece ser factor protector. Además, presentar riesgo de desnutrición al ingreso es un factor de riesgo para un desenlace negativo.

Palabras clave: Estado nutricional; Riesgo nutricional; Supervivencia; Unidad de cuidados intensivos.

INTRODUCTION

Mexican public hospitals attend 49.9% of the population¹, the most vulnerable people without health insurance. Although the government attempts to fulfill all the hospital needs, there is a shortage of medications and instruments in these medical units. For instance, nutritional therapy is not included in the subsidized product catalog for general or intensive care units (ICU) treatments.

During critical illness, metabolic expenditure increases at expense of muscle mass and adipose tissue, to meet immune and neuroendocrine responses for survival². Patients are unable to use oral route, and their intake is conditioned due to intestinal dysfunction, procedural fasting or poor medical practices. Therefore, the critically ill patients are prone to malnutrition and comorbidities, indicators of poor hospital attention, increasing the length of hospital stay (LOS), health cost and mortality³⁻⁴.

In developing countries, at least one-third of the patients arrive malnourished at the ICU⁴, and malnutrition worsens during hospitalization. Thus, an early diagnosis of the nutritional status is advisable for an effective management⁵, but nutritionists are frequently missing in these medical units.

Therefore, nutritional interventions delay, and the standard protocols do not consider nutritional status or individual requirements at admission⁶. Unnoticed nutritional status at the time of admission leads critically ill patients to an even more vulnerable condition³.

As an example of the stated problem at the ICUs, we present the case of the Public General Hospital of Sonora, Mexico, by examining the impact of nutritional status and nutritional risk at admission, on survival of critically ill patients during their stay.

MATERIAL AND METHODS

The General Hospital of the State of Sonora "Dr. Ernesto Ramos Bours", is the most important public hospital in northwestern Mexico, located in a desert region, with low population density (16 inhabitants/km²), according to the National Institute of Statistics and Geography. This secondary hospital attends vulnerable population without health insurance, providing care to 18,000 people per year.

A follow-up study was carried out from August 2017 to July 2018, and included all the patients admitted at the ICU who had at least 24 h of stay.

The patients, or the person responsible for them, signed an informed consent upon admission to the hospital. Nutritional evaluations were performed just after admission to hospitalization areas. The study protocol was approved by the Hospital Ethics Committee (SSS-HGE-CI-2017-002).

At admission, anthropometric measurements and nutritional screening NRS-2002 (Nutritional Risk Assessment) ⁷ were recorded. Also, the severity of the disease by the Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE II) ⁸ was included. Subsequently, type of nutritional therapy, LOS in the ICU and survival were registered.

Students of the School of Nutrition of the University of Sonora evaluated the NRS-2002 and performed the anthropometric measurements. The NRS-2002 was achieved within the first 48 h of admission to the ICU, by direct or indirect questioning, as well as by physical examination. Since only one of the ICU beds has a scale, weight was estimated using body circumferences, according to Rabito *et al.*, 2008 ⁹. Height was estimated by knee-heel length ¹⁰, with the patient in dorsal decubitus position. Body mass index (BMI) was calculated with weight and height by kg/m², and classified according to the World Health Organization (WHO) as underweight

(<18.5 kg/m²), normal weight (18.5 - 24.9 kg/m²), overweight (25 - 29.9 kg/m²) or obese (> 30 kg/m²).

Data analysis

Statistical analyses were done by the software STATA version 12 (StataCorp, Texas, E.U.A.). To compare some characteristics of the patients according to their nutritional status, a one-way Analysis of Variance (ANOVA) was used. Survival analyses were applied to look for relationship between nutritional status, nutritional risk, and gender with survival. A Cox proportional hazard regression model was used to evaluate nutritional risk at admission as a possible indicator for survival, once adjusted by age, gender and illness. The assumption of proportionality in the Hazard Ratios (HR) was tested. A Kaplan Meier test was performed for graphic description, and the LogRank test was used to compare survival probability across BMI categories at admission. From this information, we plotted survival curves, using survival or death as censored data.

RESULTS

Over the year, 191 patients (122 male) were enrolled; their average age was 45.2 ± 17.1 years. The most frequent reason for admission was cardiovascular diseases (19.3%), followed by other pathologies (14.1%), post-operated patients (12.5%), and trauma (10.9%). The mean of the LOS in the ICU was 6.6 days, ranging from 1 to 84 days of hospitalization, and was significantly higher ($p < 0.05$) in patients with obesity, compared to underweight patients (10.2 vs. 4.5 days respectively). BMI was 26.6 ± 6.2 , and according to this indicator, 6.8% of the patients were underweight, 32.9% had adequate weight, 39.2% were overweight, and 20.9% were obese. The mean for NRS-2002 was 4.3 ± 1.9 . APACHE II was used to analyze the severity of the disease in only 47 of the 191 patients. Since the ICU medical staff does not routinely evaluate this criterion, the mean does not represent the population in this unit.

According to the medical condition, renal patients presented the highest prevalence of underweight (3 from 16 patients); meanwhile, those with respiratory diseases, showed the highest prevalence of obesity (8 from 19 patients). The highest mortality occurred in subjects with trauma diagnosis, representing 8 deaths from 12 patients.

NRS-2002 was performed in 181 patients, from which 85.08% presented nutritional risk at admission, which was significantly higher ($p < 0.05$) in underweight patients (6.15 ± 2.4), compared to the overweight group (4.3 ± 1.96).

Figure 1 shows the Kaplan Meir survival estimates by BMI at admission to the ICU. Malnourished patients had a lower probability of survival, with less than 10 days in the ICU, regardless of the pathology suffered. Meanwhile, patients with overweight or obesity had higher survival probability, 50%, and 70% respectively.

Figure 2 shows a survival curve according to the results of NRS-2002, where values ≥ 3 indicate

risk of malnutrition and values <3 are not associated with the risk of malnutrition. Patients with mean NRS-2002 values of 4.3 had higher survival than patients with mean values of 5.07, and probability of survival fell to 45%, after 20 days in the ICU. This result matches with the data obtained in a Cox regression analysis, since we found a significant relationship between the NRS-2002 score and survival (HR: 1.25, 95% CI 1.03 - 1.52) once adjusted by gender, age and condition. Also, the probability of survival of patients in the ICU according to gender was higher in women; their probability of discharge alive was 70%, and the mortality rate was 10% in the first 5 days, without major losses until 15 days of stay (Data not shown).

Table 1 shows a Cox regression analysis evaluating the relationship between mortality and nutritional status. The HR described relative risk of mortality by BMI at admission. Higher BMI compared to the reference group (underweight) had lower although non-significant HR for hospital mortality. The obesity group tended to have better outcomes (HR 0.43, 95% CI) compared to the rest of the groups. After adjusting, the results were similar (HR 0.36, 95% CI).

DISCUSSION

We assessed nutritional status of critically ill patients upon admission to the ICU, using the BMI cut off, and found higher prevalence of underweight (6.8%) compared to a population in Germany (1.8%)¹¹. In contrast, the proportion of underweight patients in our study is similar to that of patients from the ICU of tertiary level hospitals in 8 developing countries of Latin America, including Mexico (6.6%)¹².

Some patients at ICU admission already suffer from chronic diseases, leading to underweight. In this study, 19% of patients found in the group of renal diseases were underweight. The prevalence of underweight patients in this ICU was double than in open population in the area, and the majority of patients (74%) are classified as overweight or obese¹³.

An adequate nutritional assessment is decisive to provide a nutritional therapy suitable to decrease, as much as possible, the muscle waste. However, no biochemical indicator that evaluates body reserves under acute conditions. Although anthropometric measurements are inexpensive and practical, they are not always feasible for critically ill patients. For instance, weight is the best anthropometric indicator of body mass, but in critically ill patients, it varies due to redistribution of body fluids, as edema. Therefore, body weight does not represent the real body mass. Moreover, the patient weight measurement is difficult due to the mechanical ventilation and sedation specially if there are no bed-integrated scales. In these circumstances, weight is estimated by equations, with doubtful precision¹⁴.

The American and the European Associations of Parenteral and Enteral Nutrition (ASPEN and ESPEN) have recommendations for the assessment of nutritional status. It should be done by socio-demographic, anthropometric, weight loss, body composition, muscle mass, biochemical, clinical and dietary parameters, evaluated before the first 48 h of admission at the ICU and daily

followed throughout LOS. Nonetheless, there is a gap between the guidelines recommendations and the current procedure at the bedside. Additionally, there is a lack of consensus of a validated screening tool to evaluate nutritional status in critically ill patients ¹⁵.

Catabolism occurs in both ends of nutritional status even if not easily noticeable in obese subjects ¹⁶. The survival curves showed different patterns in our population according to BMI (Log-Rank test: $p=0.06$). This seems to indicate that our findings confirm the paradox of obesity in the ICU, illustrated graphically in Figure 1, since overweight or obese patients had better opportunity to survive than those underweight or with normal weight did ^{11,12}. However, BMI $<18.5 \text{ kg/m}^2$, once adjusted for age, sex, and pathological condition, showed no association with the outcome, due to small sample size.

Our results show an independent, although non-significant association among being obese and a lower risk of mortality (HR 0.36, 95% CI 0.08-1.5) in comparison to being underweight, adjusting for age, sex or illness. Therefore, although the overall mortality among BMI groups was not significant, it shows a tendency of higher risk for hospital mortality on underweight patients, compared to patients with normal weight, overweight or obesity. Looking for the most frequent complications in a study of 12,938 critically ill patients, respiratory failure was higher in obese compared to normal weight¹¹. However, there were no differences in overall organ failure among BMI groups, concluding that obesity decreases mortality risk in 60 days of LOS (HR 0.83, 95% CI 0.69-0.99). The association between BMI and the risk of mortality corresponds with the rates of mortality in our population, where BMI <18.5 had a greater rate (30%), followed by the group of normal weight (23.8%), overweight (16.1%) and the obesity group (15%).

ESPEN guidelines recommend that upon 48 h of admission, every ICU patient should be considered at risk of malnutrition¹⁵. Nevertheless, there is evidence that some patients require

more attention in terms of nutritional needs. Several studies have shown negative outcomes in underweight or normal weight patients admitted at the ICU when compared with those overweight or obese¹⁶. Although, the precise molecular pathway underlying these phenomena is partially understood, it describes that in obese patients, the rate of fat oxidation is significantly lower than in lean subjects (61% and 39% respectively)¹⁷.

Hospital malnutrition is associated to increase LOS, which is shorter in overweight and obese than in normal weight and underweight patients¹¹. We noticed a different behavior in our population; the LOS was lower in the underweight group (4.5 days) and exhibit an increment as BMI increased: normal weight (5.7 days), overweight (6.16 days) and obese (9.7 days). Differences could be due to a lower probability of survival in our underweight patients, regardless of the pathology suffered. Similar behavior was previously found in 6518 critically ill patients, where the underweight group had the shorter stay (14.5 days), followed by the normal weight (18.4 days), overweight (18.8 days) and obesity groups (20 days)¹⁶.

In Mexico, by law, all hospitalized patients must have a nutritional screening in the first 48 h of admission, followed by a nutritional assessment in those at risk (IMSS, Mexican Institute of Social Security). For this purpose, we applied the NRS-2002, which has specificity and sensitivity > 80% for hospitalized elder patients. As is common in this type of instruments, it considers the nutritional status as BMI and/or weight loss in the last 6 months; as well as the decrease in food ingestion, the severity of the disease and age⁷.

NRS-2002 was not designed for acute care patients, however the ASPEN¹⁴ and ESPEN¹⁵ point out that, while there is no validated tool for ICU patients it is a good predictor of nutritional risk with sensitivity of 70% and specificity of 85% on this population.

Our results show that the risk of malnutrition upon admission to the ICU was very high (85.1%).

In Europeans, the nutritional risk at admission to an ICU was 32.6%, using the same assessment

tool¹⁸ while in Portuguese patients the risk was 48.6%, with a different instrument¹⁹.

The information described in the previous paragraph is complemented by the nutritional risk survival curve. Fig. 2 shows that on the tenth day of stay at the ICU, there is an intersection in the survival probability of 80%. Therefore, nutritional status is recognized as a modifiable risk factor, with negative results in critically ill patients⁶. The key to successful therapy seems to be the early identification of malnutrition, since evidence supports the benefits of early adequate nutritional intervention. Proceedings in patients at risk have been widely described and nutritional strategies include oral supplementation, enteral and/or parenteral support.

To achieve an adequate nutritional intervention at the ICU, a multidisciplinary team is necessary. In Mexico, it is unclear how many nutritionists are actually working at ICUs and what their activities are. Currently, our ICU team does not include the active participation of a nutritionist, and the protocol for the administration of enteral nutritional support, operates under a standard procedure, without considering the energy-protein requirements or the nutritional status of the patient. In the present study, 69 of the 118 patients with NRS-2002 ≥ 3 received enteral nutritional support. This type of nutritional treatment was used mainly in patients with conditioned oral route by the dependence on mechanical ventilation and analgesia. No parenteral support or oral supplementation was used in any patient. Along with these lines, several studies indicate multidisciplinary protocols for nutritional intervention, designed according to the characteristics, condition, and needs of each patient. The cost of nutritional interventions is, by far, less than the complications associated with malnutrition, in addition to improving hospital quality indexes²⁰.

In conclusion, patients admitted to the ICU with overweight or obesity, seem to have better opportunity to survive than underweight ones (BMI <18.5). Risk of malnutrition measured by the NRS-2002 score >3 is a risk factor for survival in our population. The findings of this study

highlight the need to involve each member of the multidisciplinary team to implement processes that allow the identification, follow-up, and treatment of patients with malnutrition in the ICU. Despite the time over, we can reaffirm the classic "Skeleton in the Closet of the Hospital" by Butterworth (1974), where evidence of overlooked and prevalent health problem with fatal complications, must be urgently addressed.

Acknowledgements

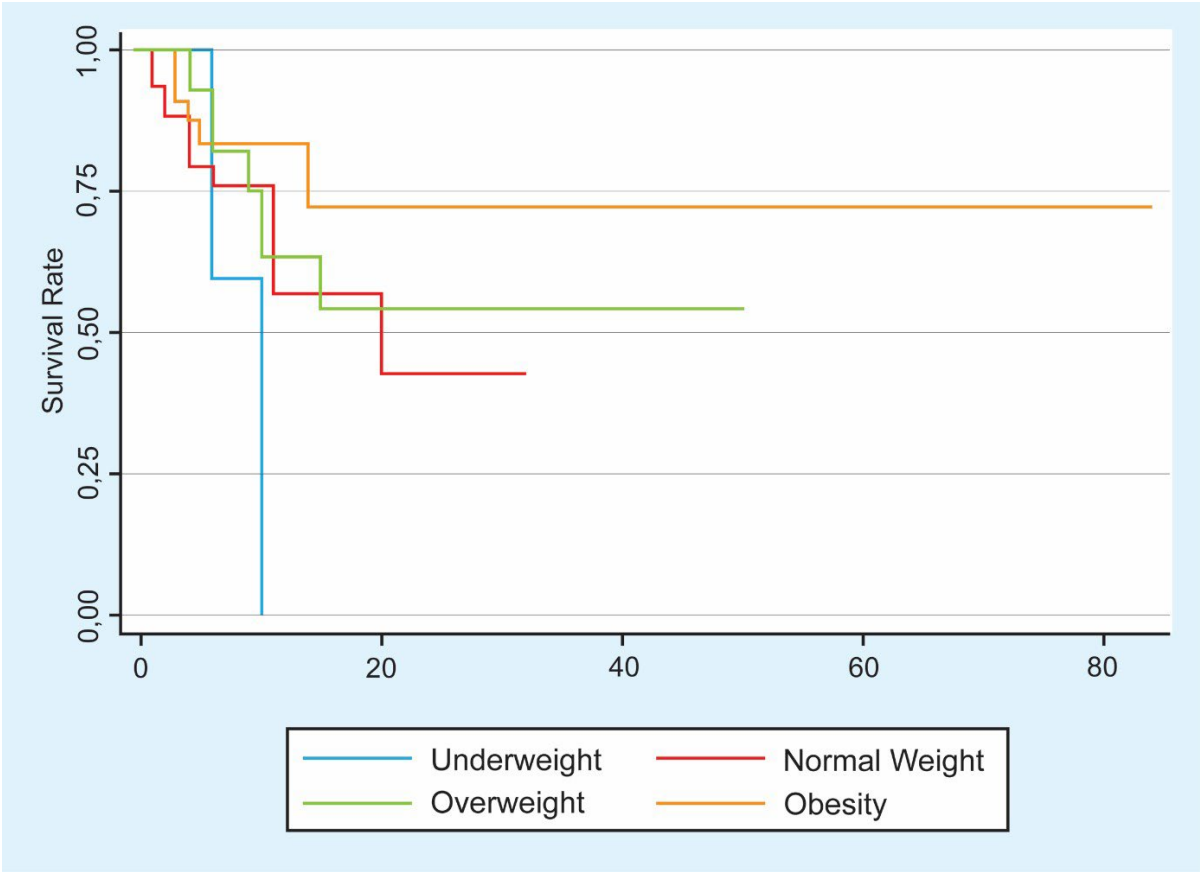
The authors thank the participants and their families in this study and to the ICU team. We also thank MD. Susana Pérez-Cornejo, chief of the UCI. Financial support was not necessary.

REFERENCES

1. Available in: <https://www.inegi.org.mx/temas/derechohabiencia/>
2. Cuthbertson D. Post-shock metabolic response. *Lancet* 1942;1:433–437.
3. Grippa RB, Silva PS, Barbosa E, Bresolin NL, Mehta NM, Moreno Y, et al. Nutritional status as a predictor of duration of mechanical ventilation in critically ill children. *Nutr* 2017;33:91–95.
4. Tappenden KA, Quatrara B, Parkhurst MM, Malone AM, Fanjiang G, Ziegler TR, et al. Critical role of nutrition in improving quality of care: an interdisciplinary call to action to address adult hospital malnutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2013;37:482–497.
5. Mueller C, Compher C, Ellen DM. American Society for Parenteral and Enteral Nutrition. (A.S.P.E.N.) Clinical Guidelines. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2011;35:16-24.
6. Kim H, Stotts NA, Froelicher ES, Engler MM, Porter C. Why patients in critical care do not receive adequate enteral nutrition? A review of the literature. *J Crit Care* 2012;27:702-713.
7. Kondrup J, Rasmussen HH, Hamberg O, Stanga Z. Nutritional Risk Screening (NRS-2002): a new method based on an analysis of controlled clinical trials. *Clin Nutr* 2003;22(3):321-336.
8. Zimmerman JE, Kramer AA, McNair DS, Malila FM. Acute physiology and chronic health evaluation (APACHE) IV: hospital mortality assessment for today's critically ill patients. *Crit Care Med* 2006;34:1297-1310.
9. Rabito EI, Mialich MS, Martínez EZ, García R, Jordao AA, Marchini JS, et al. Validation of predictive equations for weight and height using a metric tape. *Nutr Hosp* 2008;23:614-618.
10. Mendivil H, Villegas RC, Díaz RG, Antunez LE, Valencia ME. Modelo para la estimación de la talla de pie en adultos mexicanos de 20-59 años basado en la longitud rodilla-talón. *Nutr Hosp* 2015;32:2855-2861.
11. Hutagalung R, Marques J, Kobyłka K, Zeidan M, Kabisch B, Brunkhorst F, et al. The obesity paradox in surgical intensive care unit patients. *Intensive Care Med* 2011;37:1793-1799.
12. Correia MI, Campos AC. Prevalence of hospital malnutrition in Latin America: the multicenter ELAN study. *Nutr* 2003;19:823-825.
13. Instituto Nacional de Salud Publica. Encuesta nacional de salud y nutrición de medio camino, 2016 (ENSANUT MC, 2016). <https://ensanut.insp.mx/ensanut2016/index.php>

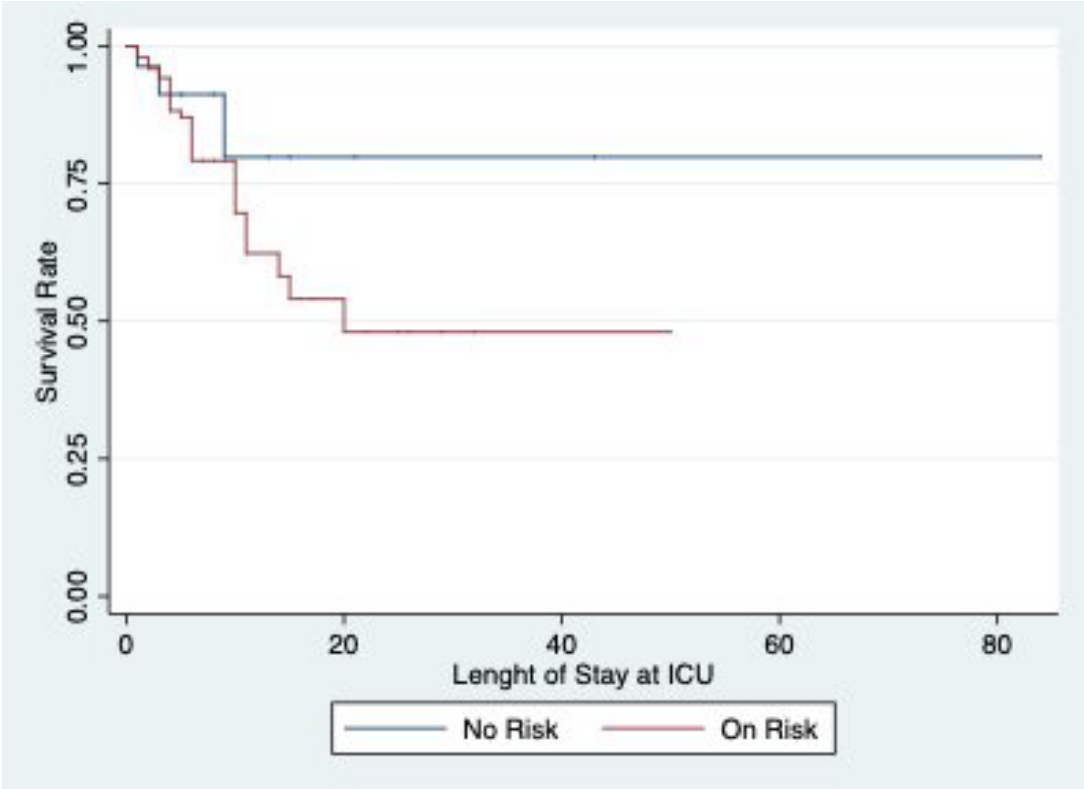
14. Mueller C, Lord C, McClave S, Miller S. 2017. The ASPEN adult nutrition support core curriculum. Third edition. American Society of Parenteral and Enteral Nutrition. ISBN: 978-1-889622-31-6
15. Singer P, Blaser AR, Berger MM, Alhazzani W, Calder PC, Casaer MP, et al. ESPEN guideline on clinical nutrition in the intensive care unit. *Clin Nutr* 2019;38:48-79.
16. Mogensen KM, Robinson MK, Casey JD, Gunasekera NS, Moromizato T, Rawn JD, et al. Nutritional status and mortality in the critically ill. *Crit Care Med* 2015;43:2605-2615.
17. Jeevanandam M, Young DH, Schiller WR. Obesity and the metabolic response to severe multiple trauma in man. *J Clin Invest* 1991;87:262-269.
18. Sorensen J, Kondrup J, Prokopowicz J, Schiesser M, Krahenbu"hl L. EuroOOPS study group. EuroOOPS: an international, multicenter study to implement nutritional risk screening and evaluate clinical outcome. *Clin Nutr* 2008;27:340-349.
19. Mendes R, Policarpo S, Fortuna P, Alves M, Virella D, Heyland DK. The Portuguese NUTRIC study group. Nutritional risk assessment and cultural validation of the modified NUTRIC score in critically ill patients—A multicenter prospective cohort study. *J Crit Care* 2017;37:45–49.
20. Malnutrition action group of BAPEN and the national institute for health research Southampton biomedical research center. The cost of malnutrition in England and potential cost savings from nutritional interventions. 2015. ISBN: 978-1-899467-03-3

Figure 1. Kaplan Meir survival estimates graph by BMI at admission in the ICU



(Log-rank test: p=0.060)

Figure 2. Kaplan Meir survival estimates graph by nutritional risk assessment score (NRS-2002>3) at admission



(Log-rank test: p=0.246)

Table 1. Hazard Ratio (HR) for risk of mortality in critical ill patients classified by nutritional status at admission using BMI

Nutritional Status (BMI) at admission	Crude analysis HR (95% CI)	P value	Adjusted analysis* HR (95% CI)	P value
Underweight (n=13)	Reference	NA	Reference	NA
Normal Weight (n=63)	0.88 (0.253 - 3.08)	0.84	0.86 (0.236 - 3.13)	0.82
Overweight (n=75)	0.50 (0.138 - 1.86)	0.30	0.38 (0.095 - 1.55)	0.18
Obesity (n=40)	0.43 (0.105 - 1.76)	0.24	0.36 (0.081 - 1.58)	0.17

BMI: body mass index

Underweight BMI <18.5, Normal Weight BMI 18.5-24.9, Overweight BMI 25-29.9, Obesity BMI > 30

*Cox Regression Model adjusted for age, gender and medical condition.

2. DÉFICIT ENERGÉTICO Y PROTEICO CRÍTICO CON GRAN APORTE DE CALORÍAS PROVENIENTES DE FÁRMACOS TRAS UNA SEMANA EN UNA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS.

Publicado: Nutrición Hospitalaria 2022; 39(1):1-7; doi: [10.20960/nh.03734](https://doi.org/10.20960/nh.03734).



Nutrición Hospitalaria



Trabajo Original

Paciente crítico

Déficit energético y proteico crítico con gran aporte de calorías provenientes de fármacos tras una semana en una unidad de cuidados intensivos *Critical deficiencies of energy and protein with a high provision of non-nutritional calories after one week in an intensive care unit*

Erika Ibarra Pastrana¹, Aurora Elizabeth Serralde Zúñiga² y Ana María Calderón de la Barca¹

¹Departamento de Nutrición. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) A.C. Hermosillo, Sonora, México. ²Servicio de Nutrición Clínica. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Ciudad de México, México.

Resumen

Introducción: la terapia nutricional es esencial para tratar a pacientes críticos pero, si no es la adecuada, aumenta el riesgo de desnutrición y complica la evolución.

Objetivo: evaluar la adecuación de la terapia nutricional enteral en una unidad de cuidados intensivos (UCI).

Métodos: se evaluó una cohorte adulta ingresada a una UCI con nutrición enteral y estancia ≥ 7 días. Al ingreso se registraron la severidad de la enfermedad y los datos socio-demográficos, clínicos y nutricionales, con cribados que incluyeron la IL-6 y la composición corporal. Diariamente se evaluó el aporte de nutrientes con respecto al 70 % óptimo de lo prescrito por las guías internacionales, para estimar el déficit energético-proteico.

Resultados: se incluyeron 26 de 132 pacientes ingresados. Su probabilidad de mortalidad era del 20-25 % debido a la severidad de su enfermedad por los sistemas APACHE (16.6 ± 6.0) y SOFA (8 ± 4.4); su riesgo de desnutrición era de 5.6 ± 1.09 puntos por el NRS-2002, con 4.3 ± 1.2 de ángulo de fase. El déficit energético promedio era de -674 kcal/día, con un 13 % en aporte proteico (28 ± 11.5 g/d) y un 42 % en lípidos, y con el 17.5 % proveniente del propofol. El NUTRIC se asoció significativamente con los porcentajes de prescripción calórica alcanzados los días 3 y 7 ($R^2 = 0.21$, $p = 0.01$).

Conclusión: los pacientes sufrieron déficit calórico/proteico, con déficit proteico crítico de > 85.2 g/día e inadecuada relación entre calorías proteicas y no proteicas, aumentando su riesgo de complicaciones.

Palabras clave:

Nutrición enteral.
Paciente crítico.
Unidad de cuidados intensivos.

Abstract

Introduction: nutritional therapy is essential for the treatment of critically ill patients, although its right application fails frequently, which increases the risk for undernutrition and complications.

Objective: to evaluate the nutritional adequacy of patients with enteral nutritional support in an intensive care unit (ICU).

Methods: a cohort study was conducted including adults admitted to the ICU with enteral support and stay ≥ 7 days. Demographic data, severity of the disease, and clinical and nutritional scores, including IL-6 levels and body composition, were evaluated at admission. Nutritional intake was recorded daily in relation to the target intake according to international guidelines, for calculation of caloric and protein deficiencies.

Results: in all, 26 from 132 admitted patients were included. Their probability of mortality was 20-25 % due to disease severity by APACHE (16.6 ± 6.02) and SOFA (8 ± 4.4). Undernutrition risk was 5.6 ± 1.09 by NRS-2002 and 4.3 ± 1.2 by angle phase. Caloric deficiency was -674 kcal/day, with 13 % proteins (28 ± 11.5 g/d) and 42 % lipids, including 17.5 % of non-nutrient calories from propofol. NUTRIC was significantly associated with percentages of the caloric prescription at days 3 and 7 ($R^2 = 0.21$, $p = 0.01$).

Conclusion: patients had a caloric/protein deficit with critical protein deficit of -85.2 g/day, and an inadequate proportion between protein calories and non-protein calories, increasing their risk of complications.

Keywords:

Enteral nutrition.
Critical care. Intensive care unit.

Recibido: 10/06/2021 • Aceptado: 22/07/2021

Agradecimientos: damos las gracias a todos los pacientes y familiares, a la Dra. Pérez Cornejo y al personal de la UCI del HG, y la Dra. Mata Haro por su colaboración en el análisis de la IL-6.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Ibarra Pastrana E, Serralde Zúñiga AE, Calderón de la Barca AM. Déficit energético y proteico crítico con gran aporte de calorías provenientes de fármacos tras una semana en una unidad de cuidados intensivos. Nutr Hosp 2022;39(1):1-7

DOI: <http://dx.doi.org/10.20960/nh.03734>

©Copyright 2022 SENPE y ©Arán Ediciones S.L. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-SA (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).

Correspondencia:

Ana María Calderón de la Barca. Departamento de Nutrición. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) A.C. Carretera Gustavo Enrique Astiazarán Rosas, 46. Colonia La Victoria. Hermosillo 83304, Sonora, México
e-mail: amc@ciad.mx

INTRODUCCIÓN

Los pacientes críticos sufren pérdidas masivas de músculo esquelético y visceral debido a una disminución de la síntesis de proteínas y un aumento del catabolismo (1). Además, se altera el metabolismo de los sustratos energéticos y los afectados pueden padecer complicaciones gastrointestinales. Por esto requieren, especialmente, una terapia nutricional (TN) individualizada que garantice el aporte energético-proteico (2-4).

El riesgo de deterioro nutricional en los pacientes críticos se incrementa conforme avanzan los días de la estancia hospitalaria (LOS), especialmente por un aporte energético-proteico insuficiente (1,5). Esto es un factor de riesgo independiente para el desarrollo de infecciones nosocomiales, mala cicatrización de heridas, disfunción de los músculos e incremento de la LOS, los costos hospitalarios y la mortalidad (5).

A pesar de la evidencia, muchos pacientes críticos solo reciben alrededor del 50 % de sus requerimientos energético-proteicos (REP) (6). El aporte energético adecuado con preponderancia de proteína durante los primeros días de estancia en la unidad de cuidados intensivos (UCI) es crucial, debiéndose administrar al menos el 70 % de los REP (7-9). Si se suministra la TN enteral (TNE) tardíamente, iniciándola con bajos volúmenes y aumentos graduales de acuerdo con la tolerancia, se induce una subalimentación. Esto genera un déficit acumulado de proteínas y calorías durante el curso de la enfermedad, aumentando el riesgo de complicaciones (8).

Para alcanzar los REP, las guías de práctica clínica recomiendan empezar por una evaluación nutricional al ingreso en la UCI (10). Para este propósito se pueden emplear distintas herramientas, donde se incluyen los cribados nutricionales y las mediciones antropométricas o técnicas más sofisticadas para evaluar la integridad de los tejidos.

Dentro de los cribados nutricionales más utilizados está el Nutritional Risk Screening-2002 (NRS-2002), que no fue diseñado para el paciente crítico; sin embargo, se utiliza ampliamente en la práctica. En la escala NRS-2002, los valores mayores de 3 señalan el riesgo de desnutrición (RD) (11). Por su parte, el cribado nutricional NUTRIC se diseñó específicamente para los pacientes críticos. Los resultados ≥ 6 en este cribado se asocian a mal pronóstico y detectan a los pacientes que se beneficiarían de la TN (12).

El cribado NUTRIC puede o no incluir la IL-6, que aunque poco común en la práctica clínica, es el referente de la tormenta de citocinas. Sus niveles elevados son indicativos de mal pronóstico, como se observó recientemente en pacientes con COVID-19 (13).

Además, para evaluar el estado nutricional se puede aplicar el análisis de vectores de bioimpedancia eléctrica (BIVA), que evalúa físicamente la cantidad y calidad de los tejidos blandos. De sus resultados se interpreta la capacidad de la célula para retener nutrientes (14). Con los datos de resistencia y reactancia se puede estimar el ángulo de fase (AF), que es también indicador del estado nutricional. Los valores ≤ 5 en los hombres y ≤ 4.6 en las mujeres señalan la desnutrición (15).

Las guías de práctica clínica recomiendan el inicio temprano y personalizado de la TN. A la par, exhortan a involucrar la participación de un equipo multidisciplinario para brindar mejor atención al paciente y, con ello, optimizar el aporte de los REP (16).

En este contexto, el objetivo de este estudio fue evaluar la adecuación nutricional de la TNE en la UCI de un hospital general de segundo nivel.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este fue un estudio de cohortes prospectivo, de abril a diciembre de 2019, en la UCI de un hospital público de segundo nivel de una zona desértica de 178,3 km², con 16 habitantes/km². La UCI recibía antes de la COVID-19 a 190 pacientes de media al año.

Se consideraron elegibles los adultos ingresados en la UCI que requirieran nutrición enteral y cuya estancia fuera ≥ 7 días. Se excluyeron aquellos con embarazo, muerte inminente, protocolo de trasplante, fallo hepático, incapacidad para alimentarse por el tracto digestivo o alimentación parenteral u oral.

A los pacientes incluidos se les colocó una sonda nasogástrica para administrar la TNE con fórmulas estándar exclusivamente. Todos los pacientes estaban bajo ventilación mecánica asistida y se les alimentó utilizando equipos de infusión volumétrica en modo continuo.

El estudio fue aprobado por el comité de ética (SSS-HGECI-2017-002). Se invitó directamente, o por medio de responsables, a los pacientes que cumplían los criterios de selección y firmaron el consentimiento informado. Se registraron los datos demográficos, de composición corporal, clínicos y nutricionales. Se dio seguimiento a 42 pacientes que cumplían los criterios, pero solo se analizaron los datos de aquellos que permanecieron al menos 7 días en la UCI.

ANTROPOMETRÍA Y COMPOSICIÓN CORPORAL

Al ingreso se registró el peso, referido por el familiar o usando el cálculo:

$$\text{peso (kg)} = 2.2 \times \text{IMC} + 3.5 \times \text{IMC} \times (\text{talla} - 1.5 \text{ m}) \quad (10).$$

La talla fue la referida por el familiar o la estimada siguiendo la técnica de la altura de la rodilla (17), empleando un antropómetro Harpenden (Reino Unido).

La medición de la BIA se realizó al ingreso y al séptimo día, según los criterios del "National Institute of Health Technology Assessment Conference Statement", utilizando un sistema de monofrecuencia (RJL Quantum II Systems, Inc.). Se utilizaron cuatro electrodos en posición distal (dos sobre la mano y dos sobre el pie). Con los valores de resistencia y reactancia de acuerdo con la talla, se graficaron los vectores de bioimpedancia eléctrica y se calculó el ángulo de fase (AF) utilizando los programas BIVA Software y BIVA Confidence 2002 (Piccoli & Pastori, 2002).

REVISIÓN CLÍNICA

En las primeras 24 h se evaluó la severidad de la enfermedad con la *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation* (APACHE) y la *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA) (18,19). Además, en las primeras 48 h se realizaron los cribados nutricionales *Nutritional Risk Assessment* (NRS-2002) y *Nutrition Risk in Critically Ill* (NUTRIC).

CUANTIFICACIÓN DE LA IL-6

Al ingreso y a los 7 días de estancia se recolectaron muestras de sangre y los sueros se analizaron por citometría de flujo, empleando un juego de reactivos BD™ CBA Human Inflammatory Cytokines Kit (CBA 551811, CA, EUA), en un citómetro de flujo (BD FACS Canto II, BD Biosciences, CA, EUA). Los valores obtenidos se calcularon de una curva de referencia, en pg/ml, considerando que > 400 pg/ml incrementan 1 punto los resultados de la puntuación NUTRIC.

PARÁMETROS NUTRICIONALES

Se estimaron los REP con la referencia de las guías de la Sociedades Americana y Europea de Nutrición Enteral y Parenteral (ASPEN/ESPEN), que indican la administración de 20 kcal/kg del día 1 al 3, y de 25 kcal/kg a partir del cuarto día, así como de 1,5 g/kg de aporte proteico. La cantidad óptima fue $\geq 70\%$ de los REP calculados. Asimismo, al tercer y séptimo día de seguimiento se determinó el número de pacientes que habían alcanzado la cantidad óptima.

Diariamente se evaluó la administración con el aporte calórico y proteico prescrito 24 h antes y el administrado. Como parte del aporte energético se consideraron las calorías de fármacos como el propofol. Como desenlace, se evaluó el déficit energético-proteico diario y el acumulado a los 3 y 7 días de seguimiento.

Se registró la frecuencia de complicaciones intestinales tales como diarrea, residuo gástrico, vómitos o distensión abdominal, y las interrupciones de la TNE y su motivo. También se registraron los medicamentos administrados capaces de alterar la función gastrointestinal, como los procinéticos, y aquellos que proveen calorías, como el propofol, las soluciones glucosadas y otros. De igual manera se registraron la fecha de inicio de la TN y los días de estancia en la UCI.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se empleó la estadística descriptiva para analizar los datos. Además, para el análisis de vectores y conglomerados de BIA se utilizaron los programas BIVA Software y BIVA Confidence (Piccoli & Pastorì, 2002). Se evaluaron las asociaciones con pruebas de regresión lineal, así como con pruebas de comparación de grupos independientes. Se empleó el paquete estadístico STATA 12.

RESULTADOS

En el periodo de estudio ingresaron 132 pacientes a la UCI; 42 cumplían los criterios de inclusión en la admisión. Solo 26 de los 42 permanecieron al menos 7 días en la UCI con terapia nutricia enteral. Su edad promedio era de $42 \pm 16,8$ años, el 73 % eran hombres y el principal motivo de ingreso era por traumatismo (30,7 %).

Los resultados del SOFA y el APACHE IV mostraron una probabilidad de mortalidad de entre el 20 y el 25 % (Tabla I). La media de los valores basales de la citocina IL-6 fue de 233 ± 249 pg/ml, incrementándose a los 7 días de estancia en la UCI a 842 ± 2759 pg/ml.

Tabla I. Características de los pacientes

Variable	Media \pm DE
Edad (años)	42.0 \pm 16.7
Peso (kg)	88.4 \pm 18.4
Talla (cm)	164.0 \pm 34.5
IMC (kg/m ²)	25.8 \pm 5.79
NRS-2002	5.60 \pm 1.09
NUTRIC (IL-6)	3.61 \pm 1.38
Score > 6 (n)	6
Ángulo de fase (°)	4.3 \pm 1.2
SOFA score	8.81 \pm 4.44
APACHE IV score	16.8 \pm 6.05
Estancia en la UCI (días)	11.3 \pm 5.52

APACHE IV: *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*; IMC: índice de masa corporal; UCI: Unidad de Cuidados Intensivos; NRS-2002: *Nutritional Risk Assessment*; NUTRIC: *Nutrition Risk in Critically Ill*; SOFA: *Sequential Organ Failure Assessment*.

Los pacientes presentaban sobrepeso (IMC de 25,5), el 19,2 % de ellos con valores < 5 por el cribado NRS-2002 y, por tanto, sin RD. Por su parte, el cribado NUTRIC ≥ 6 con cuantificación de IL-6 mostró que el 15 % de los pacientes estaban en RD. Los resultados del ángulo de fase indican desnutrición para ambos sexos, tanto en la medición basal como al séptimo día de seguimiento.

La distribución actual de macronutrientes se muestra en la figura 1a, donde la administración de energía al grupo evaluado fue de 11,6 kcal/kg, incluyendo las calorías aportadas por el analgésico propofol y/o las soluciones glucosadas. La administración de proteína fue de 0,44 g/kg para los pacientes estudiados. La distribución ideal de acuerdo con las guías de práctica clínica, empleando el peso promedio para la estimación energético-proteica, se muestra en la figura 1b.

En cuanto a la adecuación calórica, se cubrió el 52,6 \pm 22,9 % de lo recomendado en los primeros 3 días de estancia y 5 pacientes alcanzaron la cantidad óptima en este periodo. Por su parte, el aporte energético se incrementó entre el cuarto y el séptimo día con el 70,3 \pm 27,1 % de la cantidad prescrita y la mitad de los pacientes estudiados alcanzaron la cantidad óptima.

En promedio, los pacientes no alcanzaron la cantidad óptima de energía (70 % de RCT) en los primeros 3 días; no obstante, la mitad (13 de 26) cubrieron sus requerimientos calóricos óptimos entre los días 4 y 7.

A pesar de que el aporte calórico fue el adecuado para 13 sujetos al séptimo día de seguimiento, el aporte de proteínas se mantuvo constantemente por debajo de la prescripción ($28 \pm 11,5$ g/d o $0,44$ g/kg), como se muestra en la figura 1a.

Los valores del NUTRIC se asociaron significativamente a los porcentajes de prescripción calórica alcanzados en los días 3 y 7 ($R^2 = 0,21$, $p = 0,01$).

En la tabla II se presentan las cantidades de calorías y proteínas prescritas, las administradas y el déficit acumulado después de 7 días de seguimiento en el total de pacientes y en aquellos que alcanzaron el 70 % de sus requerimientos calóricos. El análisis del déficit acumulado de proteínas del día 1 al 7 se muestra en la figura 2, donde ninguno de los pacientes alcanzó la cantidad prescrita.

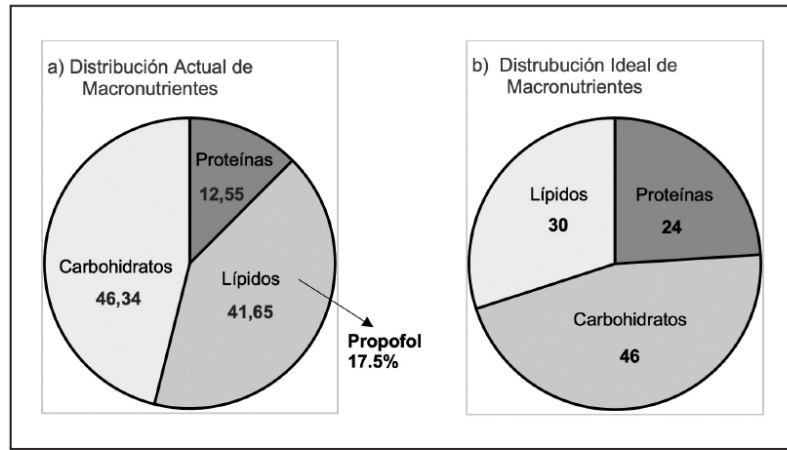


Figura 1.

Distribución actual de macronutrientes vs. distribución ideal de macronutrientes como aporte al total de energía.

Tabla II. Resumen de objetivo calórico, ingesta y adecuación nutricional en pacientes en riesgo y sin riesgo de desnutrición por NUTRIC

Adecuación nutricia	Con riesgo nutricional NUTRIC ≥ 6		Sin riesgo nutricional NUTRIC <6	
		(n = 6)		(n = 20)
Objetivo calórico				
Día 1-3		1410 \pm 274		1514 \pm 228
Día 4-7		1762 \pm 342		1892 \pm 34
Ingesta calórica diaria (Día 1-3)				
kcal		846 \pm 225		646 \pm 364
Ingesta calórica diaria (Día 4-7)				
kcal		821 \pm 281		1393 \pm 342
Adecuación nutricional (%)*				
Día 1-3		40.8 \pm 11.7		52.8 \pm 24.5
Día 4-7		71.2 \pm 27.1		77.5 \pm 28.1

*Ingesta ≥ 70 % del objetivo calórico. Datos presentados en forma de medias \pm DE. Los diferentes exponentes son diferencias significativas entre renglones ($p = 0,01$).

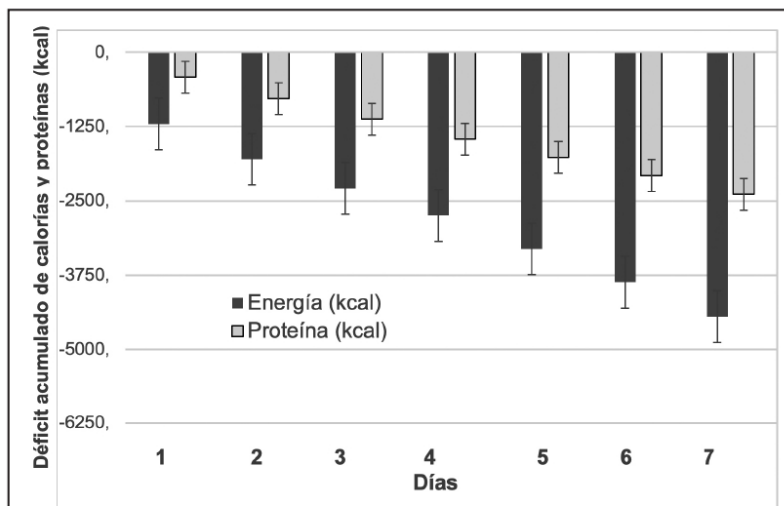


Figura 2. Sumatoria diaria del déficit calórico y proteico (medias).

DISCUSIÓN

La evaluación del estado nutricional en un paciente crítico es un reto debido a sus lesiones, además de que no hay un instrumento oficialmente validado para realizarla. En este estudio se aplicaron dos cribados para evaluar el RD y, además, se evaluó el BIVA para obtener la mayor información posible.

De acuerdo con los resultados del cribado NRS-2002 (> 5), un 80,8 % de los pacientes estaban en RD a su ingreso. Este hallazgo queda en el rango del 39,4 % a 99,5 % publicado en una revisión sistemática (20). Específicamente, el cribado NRS-2002 considera los valores del APACHE > 10 como un criterio para determinar el RD; así, la mayoría de los pacientes críticos se consideraría en riesgo. Es por ello que la ASPEN propone, como punto de corte, > 5 para los pacientes en la UCI y > 3 para los pacientes en hospitalización general (21).

En el presente estudio, solo 6 (23 %) sujetos mostraron RD al evaluarlos con el cribado NUTRIC con IL-6. Dicha proporción queda más bien en la parte baja del rango de prevalencia del RD, del 16 % al 91,1 %, encontrado aplicando el mismo cribado (20), aunque solo 2 estudios de los analizados habían incluido la IL-6. Por el tipo de parámetros involucrados, el cribado NUTRIC se asocia más a la predicción de la mortalidad que al RD, especialmente cuando se incluyen los valores de IL-6 (21). La asociación significativa encontrada entre los valores del NUTRIC y los porcentajes de prescripción calórica alcanzados a los días 3 y 7 ($R^2 = 0,21$, $p = 0,01$) explica la dificultad de alimentar a los pacientes críticos que ingresan a la UCI con RD. Sin embargo, el valor de la asociación es débil, quizá debido al tamaño de la muestra.

El 100 % de los pacientes mostró RD al evaluar su AF; a diferencia de los cribados, con este indicador se evalúa físicamente la cantidad y calidad de los tejidos blandos. Los valores altos reflejan una mayor cantidad de células, la integridad de sus membranas y su funcionalidad, es decir, su capacidad para retener nutrientes. Nuestros pacientes mostraron un riesgo de desnutrición por el AF ($4,3 \pm 1,2$ °), un poco menor que el de otro estudio análogo con AF de $5,3 \pm 1,5$ ° (22), así como el de un estudio multicéntrico donde hasta un 74 % de los pacientes promediaron un AF de 6 ° (23). En dichos estudios, la funcionalidad celular era baja desde el ingreso a la UCI.

Los pacientes que ingresan a la UCI en el estudio son al menos 10 años menores que los de otros estudios multicéntricos de Europa y América Latina (24,25). Esto se debe a la situación de violencia que se vive en la región y que involucra a gente cada vez más joven, ya que el motivo principal del ingreso a la UCI es el traumatismo.

Para calcular los requerimientos energéticos del paciente crítico, las guías de práctica clínica recomiendan la calorimetría indirecta; si no se cuenta con esta, se puede emplear el cálculo de 20-25 kcal/kg, para cubrir la cantidad óptima en 7 días (8,9). La brecha entre la cantidad de calorías-proteína prescrita y la cantidad actual administrada es el déficit calórico y/o proteico, que es acumulativo y se asocia con efectos deletéreos en la recuperación del paciente (26).

En la logística operacional de la administración de la TNE se presentan diversos problemas. Entre los más comunes están las complicaciones gastrointestinales, los asociados con el retardo y la colocación de la sonda enteral, la interferencia del personal de salud, los estudios de rutina y las prácticas no actualizadas (27,28).

En la UCI en donde se realizó nuestro estudio, la práctica habitual de la TNE es homogénea para todos los pacientes. El protocolo no considera la condición patológica, el estado nutricional previo, ni los requerimientos individuales. Se emplean fórmulas enterales estándar. El inicio de la TNE suele ser en las primeras 48 h del ingreso, comenzando con una velocidad de infusión de 10 ml/h y progresando 20 ml cada 24 h, buscando alcanzar los 60 ml/h. Como criterio de intolerancia o motivo para interrumpir la TNE se considera la presencia de un residuo gástrico > 250 ml medido cada 8 h, la presencia de vómitos, distensión abdominal o diarrea y el ayuno por procedimientos quirúrgicos y/o falta de fórmulas enterales.

El déficit calórico durante los 7 días de seguimiento en nuestros pacientes fue en promedio de -674 kcal/día, y solo se cubrió el 52,6 ± 22,9 % de la recomendación en los primeros 3 días. El 19,2 % de los pacientes alcanzaron la cantidad óptima de energía (70 % del requerimiento) en los primeros tres días, y al término de la semana lo hicieron el 50 %. Como parte del aporte calórico se consideró el anestésico propofol, que contribuyó en un 17,5 % al aporte total de lípidos (42 %). Aunque fue importante, el aporte de lípidos no excedió los requerimientos diarios tanto como para ocasionar alguna complicación (29). Sin embargo, es preocupante la baja proporción de proteínas que aportaron las fórmulas enterales estándar.

El déficit calórico/proteico se espera y acepta durante la primera semana de internamiento (30). Si excedelas -400 kcal/día, se asocia a riesgo de complicaciones, que se incrementan cuando es de -800 kcal/día y aparecen cuando es superior a -1000 kcal/día. Además, un déficit energético acumulativo en la primera semana > 6000 kcal incrementa el riesgo de mortalidad y disminuye la posibilidad del alta (1).

A pesar de que el aporte calórico fue el adecuado para 13 pacientes a los 7 días, el déficit proteico fue de -82,5 g/día si se considera la recomendación actual de 1,5 g/kg. Si el déficit proteico excede los -21 g/día, se considera crítico (1). No obstante, es común que se presente, ya que en estudios realizados en UCI de América Latina se ha encontrado un déficit proteico de -42,2 g/día, con acumulación en 5 días de 175,7 g ± 121 g (6). En el presente estudio, la deficiencia se debe al protocolo de administración de la TNE. Las fórmulas estándar solo aportan el nivel de proteínas para un adulto sano, que se diluyó aún más por el uso del propofol: por eso el aporte proteico fue solo de 28 ± 11,5 g/d.

Las complicaciones de la desnutrición asociada a condiciones patológicas han sido ampliamente descritas (26). Los resultados de este estudio evidencian la necesidad de implementar protocolos multidisciplinares y destinar presupuesto para la administración adecuada de la TN de acuerdo con las necesidades de cada paciente (31). Los costos requeridos serían mucho menores que los de los tratamientos de las complicaciones asociadas a la desnutrición, incidiendo en los índices de calidad hospitalaria (7,29).

En los primeros 7 días de estancia en la UCI, los pacientes sufrieron de un déficit energético-proteico crítico, con un alto aporte de calorías provenientes de fármacos y un paupérrimo aporte proteico, aumentando el riesgo de complicaciones.

Dentro de las fortalezas del estudio, se tuvo libre acceso a la información de los pacientes que firmaron el consentimiento informado; también se tuvo el total apoyo del personal de la UCI y del nosocomio donde se realizó el estudio. La UCI en donde se realizó el estudio fue adaptada posteriormente para recibir solo pacientes con COVID-19. Por esto, no se ha podido implementar un nuevo protocolo para la administración de TNE, como estaba planteado a partir de los resultados de este estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Yeh DD, Fuentes E, Quraishi SA, Cropano C, Kaafarani H, Lee J, et al. Adequate Nutrition May Get You Home: Effect of Caloric/Protein Deficits on the Discharge Destination of Critically Ill Surgical Patients. *J Parenter Enteral Nutr* 2016;40(1):37-44. DOI: 10.1177/0148607115585142
2. Puthucherry ZA, Rawal J, McPhail M, Connolly B, Ratnayake G, Chan P, et al. Acute skeletal muscle wasting in critical illness. *JAMA* 2013;310(15):1591-600. DOI: 10.1001/jama.2013.278481
3. Sharma K, Mogensen KM, Robinson MK. Pathophysiology of Critical Illness and Role of Nutrition. *Nutr Clin Pract* 2019;34(1):12-22. DOI: 10.1001/jama.2013.278481
4. Preiser JC, van Zanten AR, Berger MM, Biolo G, Casaer MP, Doig GS, et al. Metabolic and nutritional support of critically ill patients: consensus and controversies. *Crit Care* 2015;19(1):35. DOI: 10.1186/s13054-015-0737-8
5. Lew CCH, Yandell R, Fraser R.J.L., Chua AP, Chong MFF, Miller M. Association Between Malnutrition and Clinical Outcomes in the Intensive Care Unit: A Systematic Review. *J Parenter Enteral Nutr* 2017;41(5):744-58. DOI: 10.1177/0148607115625638
6. Vallejo KP, Martínez CM, Matos-Adames AA, Fuchs-Tarlovsky, Nogales GCC, Paz RER, et al. Current clinical nutrition practices in critically ill patients in Latin America: a multinational observational study. *Crit Care* 2017;21(1):227. DOI: 10.1186/s13054-017-1805-z
7. Correia MITD, Perman MI, Pradelli L, Omaralsaleh AJ, Waitzberg DL. Economic burden of hospital malnutrition and the cost-benefit of supplemental parenteral nutrition in critically ill patients in Latin America. *J Med Econ* 2018;21(1):1047-56. DOI: 10.1080/13696998.2018.1500371
8. Nicolo M, Heyland DK, Chittams J, Sammarco T, Compther C. Clinical Outcomes Related to Protein Delivery in a Critically Ill Population: A Multicenter, Multinational Observation Study. *J Parenter Enteral Nutr* 2016;40(1):45-51. DOI: 10.1177/0148607115583675
9. Siqueira-Paese MC, Dock-Nascimento DB, De Aguiar-Nascimento JE. Critical energy deficit and mortality in critically ill patients. *Nutr Hosp* 2016;33(3):253. DOI: 10.20960/nh.253
10. Singer P, Blaser AR, Berger MM, Alhazzani W, Calder PC, Casaer MP, et al. ESPEN guideline on clinical nutrition in the intensive care unit. *Clin Nutr* 2019;38(1):48-79. DOI: 10.1016/j.clnu.2018.08.037
11. Kondrup J, Rasmussen HH, Hamborg O, Stanga Z, Ad Hoc ESPEN Working Group. Nutritional risk screening (NRS 2002): a new method based on an analysis of controlled clinical trials. *Clin Nutr* 2003;22(3):321-36. DOI: 10.1016/s0261-5614(02)00214-5
12. Heyland DK, Dhaliwal R, Jiang X, Day AG. Identifying critically ill patients who benefit the most from nutrition therapy: the development and initial validation of a novel risk assessment tool. *Critical Care* 2011;15(6):R268. DOI: 10.1186/cc10546
13. Gorham J, Moreau A, Corazza F, Peluso L, Ponthieux F, Talamonti M, et al. Interleukine-6 in critically ill COVID-19 patients: A retrospective analysis. *PLoS One* 2020;15(12):e0244628. DOI: 10.1371/journal.pone.0244628
14. Lukaski HC, Kyle UG, Kondrup J. Assessment of adult malnutrition and prognosis with bioelectrical impedance analysis: phase angle and impedance ratio. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2017;20(5):330-9. DOI: 10.1097/MCO.0000000000000387
15. Reis de Lima e Silva R, Porto Sabino Pinho C, Galvão Rodrigues I, Gildo de Moura Monteiro JJ. Ângulo de fase como indicador del estado nutricional y pronóstico en pacientes críticos [Phase angle as an indicator of nutritional status and prognosis in critically ill patients]. *Nutr Hosp* 2015;31(3):1278-8. DOI: 10.3305/nh.2015.31.3.8014
16. Ukleja A, Gilbert K, Mogensen KM, Walker R, Ward CT, Ybarra J, et al. Standards for Nutrition Support: Adult Hospitalized Patients, the American Society

- for Parenteral and Enteral Nutrition. Standards for Nutrition Support: Adult Hospitalized Patients. *Nutr Clin Pract* 2018;33(6):906-20. DOI: 10.1002/ncp.10204
17. Mendivil H, Villegas RC, Diaz RG, Antunez LE, Valencia ME. Modelo para la estimación de la talla de pie en adultos mexicanos de 20-59 años basado en la longitud rodilla-talón. *Nutr Hosp* 2015;32:2855-61. DOI: 10.3305/nh.2015.32.6.9850
 18. Zimmerman JE, Kramer AA, McNair DS, Malila FM. Acute physiology and chronic health evaluation (APACHE) IV: hospital mortality assessment for today's critically ill patients. *Crit Care Med* 2006;34:1297-310. DOI: 10.1097/01.CCM.0000215112.84523.F0
 19. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med* 1996;22(7):707-10. DOI: 10.1007/BF01709751
 20. Cattani A, Eckert IC, Brito JE, Tartari R, Silva F. Nutritional risk in critically ill patients: how it is assessed, its prevalence and prognostic value: a systematic review. *Nutr Rev* 2020;78(12):1052-68. DOI: 10.1093/nutrit/nuaa031
 21. McClave SA, Taylor BE, Martindale RG, Warren MM, Johnson DR, Braunschweig C, et al. Guidelines for the Provision and Assessment of Nutrition Support Therapy in the Adult Critically Ill Patient: Society of Critical Care Medicine (SCCM) and American Society for Parenteral and Enteral Nutrition (A.S.P.E.N.) Preliminary Remarks. *J Parenter Enteral Nutr* 2016;40(2):159-211. DOI: 10.1177/0148607115621863
 22. Buter H, Veensta JA, Koopmans M, Boerma CE. Phase angle is related to outcome after ICU admission; an observational study. *Clin Nutr ESPEN* 2018;23:61-6. DOI: 10.1016/j.clnesp.2017.12.008
 23. Espinosa-Cuevas Mde L, Rivas-Rodríguez L, González-Medina EC, Atlano-Carsi X, Miranda-Alatríste P, Correa-Rotter R. Vectores de impedancia bioeléctrica para la composición corporal en población mexicana [Bioimpedance vector analysis for body composition in Mexican population]. *Rev Invest Clin* 2007;59(1):15-24.
 24. Sorensen J, Kondrup J, Prokopowicz J, Schiesser M, Krähenbuhl L, Liberda M, et al. EuroOOPS: An international, multicentre study to implement nutritional risk screening and evaluate clinical outcome. *Clin Nutr* 2008;27:340-9. DOI: 10.1016/j.clnu.2008.03.012
 25. Correia MI, Campos AC, ELAN Cooperative Study. Prevalence of hospital malnutrition in Latin America: the multicenter ELAN study. *Nutrition* 2003;19:823-5. DOI: 10.1016/s0899-9007(03)00168-0
 26. Lew CCH, Yandell R, Fraser RJL, Chua AP, Chong MFF, Miller M. Association Between Malnutrition and Clinical Outcomes in the Intensive Care Unit: A Systematic Review. *J Parenter Enteral Nutr* 2017;41(5):744-58. DOI: 10.1177/0148607115625638
 27. Salciute-Simene E, Stasiunaitis R, Ambrasas E, Tutkus J, Milkevicius I, Sostakaitė G, et al. Impact of enteral nutrition interruptions on underfeeding in intensive care unit. *Clin Nutr* 2021;40(3):1310-7. DOI: 10.1016/j.clnu.2020.08.014
 28. Kim H, Stotts NA, Froelicher ES, Engler MM, Porter C. Why patients in critical care do not receive adequate enteral nutrition? A review of the literature. *J Crit Care* 2012;27(6):702-13. DOI: 10.1016/j.clnu.2020.08.014
 29. Berger MM, Pichard C. Feeding should be individualized in the critically ill patients. *Curr Opin Crit Care* 2019;25(4):307-13. DOI: 10.1097/MCC.0000000000000625
 30. Villet S, Chiolerio RL, Bollmann MD, Revelly JP, Cayeux MC, Delarue J, et al. Negative impact of hypocaloric feeding and energy balance on clinical outcome in ICU patients. *Clin Nutr* 2005;24(4):502-9. DOI: 10.1016/j.clnu.2005.03.006
 31. de van der Schueren M, Elia M, Gramlich L, Johnson MP, Lim SL, Philipson T, et al. Clinical and economic outcomes of nutrition interventions across the continuum of care. *Ann N Y Acad Sci* 2014;1321:20-40. DOI: 10.1111/nyas.12498

3. CYTOKINE PROFILE MEASUREMENT BY FLOW CYTOMETRY IN CRITICALLY ILL PATIENTS.

Enviado a la Revista Biomédica del Instituto Nacional de Salud de Colombia, en enero 2022.

Biomédica

Revista del Instituto Nacional de Salud

Hermosillo, Sonora a 14 de enero del 2022

Dr. Luis Alberto Gómez
Editor de la Revista Biomédica
Revista del Instituto Nacional de Salud

Mediante la presente los abajo firmantes remitimos el manuscrito titulado "Cytokine profile measurement by flow cytometry in critically ill patients." para evaluación y posible publicación en la revista Biomédica.

La técnica descrita podría ser interesante para el público de la revista y útil para los especialistas que trabajan en hospitales. Nuestro trabajo presenta la implementación de una técnica de citometría de flujo para medir citocinas de pacientes críticamente enfermos. Ahora mismo debido al COVID, es muy importante conocer el perfil de citoquinas para encontrar los mejores tratamientos en la unidad de cuidados intensivos.

El manuscrito representa un trabajo original que no fue publicado anteriormente y que actualmente no está siendo considerado por otra revista. Todos los autores declaran que:

- hemos leído y seguido detalladamente las instrucciones para los autores antes de la remisión;
- cumplimos con la política de reconocimiento de autoría de la revista Biomédica;
- nos comprometemos a no incluir ni retirar nombres de autores después de haberse iniciado el proceso editorial;
- conocemos el contenido del manuscrito y estamos de acuerdo con él, y
- el manuscrito no ha sido publicado ni sometido a publicación en otra revista.

Atentamente,



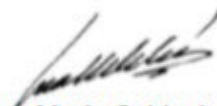
Ph.D. Erika Ibarra-Pastrana



M.D, Ph.D. Aurora Serralde-Zúñiga



Ph.D. Verónica Mata-Haro



Ph.D. Ana María Calderón de la Barca

Cytokine profile measurement by flow cytometry in critically ill patients.

Perfil de citocinas evaluado por citometría de flujo en pacientes críticos.

Cytokine by flow cytometry in critical illness.

Erika Ibarra-Pastrana¹, Verónica Mata-Haro², Aurora E. Serralde-Zúñiga³, Ana M. Calderón de la Barca^{1,*}

¹Dept. Nutrición y Metabolismo. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Sonora, México.

²Lab. Microbiología e Inmunología. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Sonora, México.

³Servicio de Nutriología Clínica. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. CDMX. México.

*Corresponding Author: Ana M. Calderón de la Barca. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Carr. Astiazarán Rosas No. 46. Col. La Victoria, Hermosillo 83304, Sonora, México. Phone: 52+ 662 2892400 ext. 306. Email: amc@ciad.mx

Author contributions:

Ibarra-Pastrana Erika: acquisition, analysis, and interpretation of data.

Mata-Haro Veronica: analysis, interpretation of data, and revising it critically for important

intellectual content.

Serralde-Zúñiga Aurora: revising the article critically for clinical aspects.

Calderón de la Barca AM: conception and design of the study, edition and final approval of the version to be submitted.

Abstract

Introduction and objective: Cytokine Release Syndrome (CRS) is a systemic inflammatory response, with severe symptoms. Therefore, it is a challenge to measure at once pro-inflammatory cytokines of this dynamic process to distinguish it from other pathologies and to apply the right treatment. **Material and methods:** We quantified by a Cytometric Bead Array 6 cytokines, from 26 critically ill patients after 1 and 7 days in the intensive care unit (ICU). **Results:** The highest IL-6 concentration was for cardiovascular disease patients after 7 days, followed by burn or heat stroke patients on day 1, and it was null for infectious patients in the ICU. The burn and heat stroke patients presented the highest concentrations at day 7 for all the evaluated cytokines, except IL-12 and IL-6, in fact, only these patients presented the IL-1 β . **Conclusion:** The cytokine patterns were disease type-specific.

Keywords

Cytokine Release Syndrome, Critical Illness, Cytokine Assay, Flow Cytometry, Critically Ill Patient, Intensive Care Unit.

Resumen

Introducción y objetivo: El Síndrome de Liberación de Citocinas (SRC) o mejor conocido como “La Tormenta de Citocinas” es una respuesta inflamatoria sistémica, con síntomas severos. Se trata de un proceso dinámico que puede confundirse con la patología de base y, por tanto, es un reto identificarlo especialmente en la práctica clínica. **Material y métodos:** Se cuantificaron por citometría de flujo 6 citocinas de 26 pacientes críticos después de 1 y 7 días en la unidad de cuidados intensivos (UCI). **Resultados:** La concentración más alta de IL-6 fue en los pacientes con enfermedad cardiovascular después de 7 días, seguida de los pacientes gran quemado o con golpe de calor el día 1, y fue nula para los pacientes infecciosos en la UCI. Los pacientes con gran quemado o con golpe de calor presentaron al día 7 las concentraciones más altas para todas las citocinas evaluadas, excepto IL-12 e IL-6, de hecho, solo en ellos se detectó IL-1 β . **Conclusión:** Los patrones de citocinas fueron específicos del tipo de enfermedad.

Palabras clave

Síndrome de Liberación de Citocinas, Enfermedad Crítica, Cuantificación de Citocinas, Citometría de Flujo, Paciente Crítico, Cuidados Intensivos.

1. Introduction

Critically ill patients are prone to suffer Cytokine Release Syndrome (CRS), a dysregulation of the immune system, resulting from the sustained activity of many immune cells, which massively release pro-inflammatory cytokines. Its manifestation includes fever, intestinal symptoms, delirium, and if left untreated, it can progress to multi-organ failure (1). In addition, CRS onset and durations vary according to the cause and the treatments, but even more important, it can include many disorders; therefore, it is important to distinguish between cytokine storm and pathologies as sepsis or iatrogenic causes (2).

There is not a standard approach for CRS measurement in the clinical setting due to the complexity and time of the analyses for several cytokines. Currently, the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) is used to quantify each cytokine separately. However, in the last 15 years the Cytometric Bead Array (CBA) an approach that combines flow cytometry and ELISA in a single sample, has become a good alternative to individual ELISAs, for analysis of different panels of proteins simultaneously in a small volume sample and a short time. Therefore, the CBA was applied to analyze the illness severity of COVID-19 (3) and the evolution of the macrophage activation syndrome (4). Hence, CBA could be very useful to evaluate the CRS evolution of patients in the intensive care units.

We used a CBA Human Inflammatory Cytokines Kit to quantify interleukin-8 (IL-8), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor (TNF α), and interleukin-12p70 (IL-12p70) of 26 patients after 1 and 7 days of intensive care unit (ICU) stay.

2. Materials and methods

We conducted a cohort study at the General Hospital of Sonora, Mexico, including adults admitted to the ICU, with mechanical ventilation and a stay for ≥ 7 days. The ethics committee (SSS-HE-CI-2017-002) approved the study. We invited patients to participate directly or through the patient's responsibility, signing the informed consent. At admission, we recorded demographic data and severity of disease by Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE IV) and Sequential Organ Failure Assessment (SOFA).

2.1 Blood samples

We collected basal blood samples for hospital-based blood testing and cytokine measurements on days 1 and 7 in an ICU. After centrifugation, sera were kept at $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ until analysis.

2.2 Cytokines measurement

We analyzed 52 (basal and 7 days after) serum samples. The BD™ CBA Human Inflammatory Cytokines Kit (Catalog No. 551811 Becton, Dickinson and Company, US) was used to quantify IL-8, IL-1 β , IL-6, IL-10, (TNF α , and IL-12 (IL-12p70). We followed the procedure of the kit user's manual. Briefly, we mixed the sample with capture beads, incubated for 30 min, and washed with wash buffer. Then, we added the antibody for detection, incubated for 30 min, followed by a final rinse, and resuspension in staining buffer. We set a standard curve with the Mixed Capture Bead, the Human Inflammatory Cytokine Standard, and the Phycoerythrin-conjugated antibody Human Th1/Th2 (Human Inflammatory Cytokine PE Detection Reagent) as indicated in the manual. Data acquisition was conducted in a flow cytometer (BD FACS Canto II, BD Biosciences, CA) and analyzed using the Graph Pad Prism software. We calculated the concentration of cytokines (pg/mL) using the mean

fluorescence intensity values according to the standard curve.

3. Results and discussion

We assessed 26 critically ill patients (42 ± 16.7 years old), most of them overweight (BMI 25.8 ± 5.79 kg/m²). The main reason for admission was trauma, followed by neurological and respiratory diseases, as well as other diseases like heat stroke and infectious diseases. Table 1 shows patients' probability of mortality by SOFA and APACHE IV scores with the mean score for all the patients as well as for each disease type. The average severity of illness in all patients by APACHE IV or SOFA scores resulted in a probability of mortality of 20%, though the scores obtained showed significant differences among disease types. Hence, the main difficulty to study critically ill patients is the heterogeneity, since different diseases will have a varied behavior and the individual characteristics will determine the pathological process (1).

Therefore, predicting which patient will develop CRS is challenging, since the cytokine release starts at the damaged tissue. Under critical conditions, cytokines are highly precise and sensitive biomarkers of the inflammatory process (2).

Table 2 shows the concentrations of the cytokines (pg/mL) by disease type at days 1 and 7 in the ICU. We did not detect TNF α in most of our patients because the first blood sample was taken at the ICU admission rather than in the emergency room. The immediate response of cytokines starts with the release of TNF α and IFN γ , but those are not detectable few hours after the injury (5). The same happened with IL-10, in most of the cases was undetectable, except for cardiovascular and respiratory diseases in both 1 and 7 days, with the highest concentration after 7 days for burns and heat strokes. IL-10 is an anti-inflammatory cytokine

that could be a good predictor of CRS and risk of mortality (6). According to our results, the ideal timing for sampling would be at the time of admission of the patient to the hospital or the emergency room.

IL-6 presented the highest concentrations of all cytokines on both days 1 and day 7, with a great variation among disease types, which ranged from 0 to 1406 pg/mL between patients with infectious and cardiovascular diseases after 7 days in the ICU. In addition, there were higher IL-6 concentrations in patients with respiratory, trauma, burn, and heat stroke diseases on the first day than after 7 days in the ICU. In contrast, for neurological and cardiovascular diseases, patients presented a higher IL-6 concentration on the first day than after 7 days from admission. IL-6 is the inflammation biomarker by excellence, it orchestrates the onset of systemic inflammation as the main mediator of the acute phase response, its increase correlates with the severity of the disease and organ dysfunction (5). It is common to find highly elevated IL-6 levels in patients with CRS and is considered as the central driver to develop symptoms.

Meanwhile, local production of chemokine IL-8 recruit's cells to the target tissue causing damage. We detected IL-8 at day 1 with a median of 70.8 (25.4-106) pg/mL and on day 7, the median value was 51.7 (15.9-116) pg/mL. IL-8 median concentrations were high both in burn and heat strokes, as well as in respiratory diseases on days 1 and 7 in the ICU.

The highest IL-1 β concentration was for patients with burns or heat strokes after 7 days in the ICU. Additionally, they presented on the same day the highest concentrations for IL-8, IL-10, and the only positive result for TNF α . Recently, the cytokine profile of COVID-19 critical patients showed an association between high concentrations of IL-6 and IL-10 with disease severity and prognosis. We found that the highest APACHE and SOFA scores had also the

highest values for IL-6 and IL-10 (data not shown). On the other hand, IL-12 ranged from 2 to 10 pg/mL without any general behavior among the types of diseases or days in the ICU.

Our findings showed disease type-specific cytokine profiles, where patients with polytrauma, severe burns, head trauma, and pneumonia, presented the highest values of IL-6, IL-8, and IL-10 after one week at ICU. The IL-1 β presented high concentration only in one severely burned patient on day 7. TNF α was detected only after 7 days in the ICU of patients with burns or heat strokes, as already commented.

Knowing the cytokine profile on each disease type of critically ill patients could offer an opportunity to elucidate the onset of CRS. Even more important, it could be the key to finding the best treatment to balance pro- and anti-inflammatory cytokines and improve outcomes (2). For this purpose, the potential clinical application of the CBA flow cytometry assay is a very promising procedure for monitoring critically ill patients.

Acknowledge: We thank all patients and families, and the staff of the ICU of HG,

Declaration of interest: none

Funding: This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

4. References

1. **Shimabukuro-Vornhagen A, Gödel M, Subklewe P, Stemmler HJ, Schlöber HA, Schlaak M, et al.** Cytokine release syndrome. *J. Immunother. Cancer.* 2018; 6, 56. <https://doi:10.1186/s40425-018-0343-9>.
2. **Fajgenbaum DC, June CH, Cytokine Stormstorm N.** *Engl. J. Med.* 2020; 383, 2255-2273. <https://doi:10.1056/NEJMra2026131>.
3. **Kwon JS, Kim JY, Kim MC.** Factors of severity in patients with COVID-19: Cytokine/chemokine concentrations, viral load, and antibody responses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2020; 103, 2412-2418. <https://doi:10.4269/ajtmh.20-1110>.
4. **Palmlad K, Schierbeck H, Sundberg E.** Therapeutic administration of etoposide coincides with reduced systemic HMGB1 levels in macrophage activation syndrome. *Mol. Med.* 2021; 27, 48. <https://doi:10.1186/s10020-021-00308-0>.
5. **Panoskaltzis N.** Are all cytokine storms the same? *Cancer Immunol. Immunother.* 2021; 70, 887-892. <https://doi:10.1007/s00262-020-02822-2>.
6. **Bienvenu J, Monneret G, Fabien N.** The clinical usefulness of the measurement of cytokines. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2000; 38, 267-85. <https://doi:10.1515/CCLM.2000.040>.

Table 1. Patients' probability of mortality by APACHE IV and SOFA

Classification by disease (%)	APACHE IV		SOFA	
	Score	Probability of Mortality	Score	Probability of Mortality
Cardiovascular (11.5)	22,5 ± 3.53	56,9%	14,0 ± 7,07	50-60%
Infectious (4.1)	17,0 ± 5.63	36,7%	9,00 ± 6,38	15-20%
Neurological (26.9)	15,5 ± 4.13	36,7%	7,83 ± 1,72	15-20%
Burn and heat stroke (7.7)	10,0 ± 3.24	14,9%	15,0 ± 8,45	50-60%
Post operation (3.8)	12,5 ± 7.77	14,9%	1,50 ± 0,71	>10%
Respiratory (15.3)	19,3 ± 7.09	36,7%	10,6 ± 4,50	40-50%
Trauma (30.7)	17,4 ± 7.34	36,7%	8,57 ± 3,95	15-20%
Mean values	16,8 ± 6,02	20%	8,81 ± 4,40	20%

APACHE IV, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; SOFA, Sequential Organ

Failure Assessment.

Table 2. Cytokines concentration (pg/mL) corresponding to each disease type

Disease type	IL-1 β	IL-6	IL-8	IL-10	IL-12	TNF α
Cardio-Vascular	8,3 (7,8-8,6)*	102 (21-184)	39,8 (22-57)	6 (0-12)	6,8 (5,9-7,8)	0
	11,6 (7,8-15)	1406 (520-2293)	31,2 (27-35)	1,4 (0-2,8)	10,8 (7-14)	0
Infectious	10 \pm 1,2	0	6,05 \pm 0,06	0	9,4 \pm 1,78	0
	10 \pm 2,3	0	33,9 \pm 1,8	3,07 \pm 0,4	2,4 \pm 0,02	0
Neurological	6,9 (6,4-7,9)	73 (52-86)	28 (17-105)	0	3,2 (1,9-6,7)	0
	6,4 (5,8-7,6)	209 (46-823)	15 (13-75)	0	1,9 (1,4-2,9)	0
Burn and heat stroke	6,8 (4,9-8,6)	562 (363-760)	127 (90-163)	0,9 (0-1,9)	5,1 (2,1-8,1)	0
	73 (8,5-138)	76 (28-125)	4820 (58-9583)	794 (0-1499)	7,2 (6-7)	5,2 (0-10)
Post-Surgery	7,4 (6-8,9)	200 (99-301)	73,2 (50-96)	0	5,9 (3,6-8)	0
	7,6 (6,4-8,7)	179 (139-219)	64 (58-71)	0	6,6 (4,6-8,5)	0
Respiratory	6,8 (4,5-7,9)	240 (61-888)	173 (51-478)	12,8 (5,2-47)	6,8 (1,5-32)	0
	8 (7,5-9)	78 (47-288)	289 (8,2-804)	10 (0-97)	7 (3,7-28)	0
Trauma	7,1 (6,9-8,4)	236 (80-515)	72 (15-285)	0	4,1 (1-7,2)	0
	9 (7,1-10)	40,5 (26,5-177)	57 (16-127)	0	3,2 (2,3-8,2)	0
Median (IR)	7,2 (6,6-8,5)	144 (65-446)	70,8 (25-106)	4,76 (0,2-5,4)	5,2 (2,5-8,0)	0
	8,3 (6,9-9,6)	129 (38-355)	51,7 (16-116)	67,2 (0,3-987)	4,2 (2,4-8,2)	0

*The upper row in each disease type file corresponds to day 1 and the lower row to day 7.

Data are median (IR) or mean \pm S.D.

**4. ARE THE PROTEIN SOURCES FOR FOOD INDUSTRIALIZATION SUITABLE
FOR ENRICHMENT OF MEDICAL ENTERAL FORMULAS?**

En revisión interna, ya en formato para enviarse a la revista antes del 21 de enero del 2022.

Are the protein sources for food industrialization suitable for enrichment of medical enteral formulas?

¹Ibarra-Pastrana E, ²Carvajal-Millán E, ¹Calderón de la Barca AM*.

¹Dept. Nutrición y Metabolismo. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.

²Coord. Tecnología de Alimentos de Origen Animal. Lab. de Biopolímeros. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.

Authors' information

¹Ibarra-Pastrana, Erika (Ph.D.), ORCID 0000-0003-0569-5756

²Carvajal-Millán, Elizabeth (Ph.D), ORCID 0000-0003-4390-7457

¹Calderón de la Barca AM* (Ph.D.), ORCID 0000-0001-6684-9320

*Corresponding Author: Ana M. Calderón de la Barca

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.

Carretera Astiazarán Rosas No. 46. Col. La Victoria, Hermosillo 83304, Sonora, Mexico.

Phone: 52+ 662 2892400 ext. 306

Email: amc@ciad.mx

Abstract

Introduction: A high protein supply improves morbidity and mortality of critically ill patients. However, high protein enteral formulas and modular protein supplements (MPS) for enrichment of standard enteral formulas are scarce and expensive in Mexico. Looking for alternatives to MPS, our aim was to analyze the properties of protein ingredients used in the food industry in comparison to available MPS. **Methods:** We analyzed 3 casein-MPS, 3 whey protein sources and 3 plant-based concentrates: soy, pea and amaranth. We assessed cost, protein content, amino acid profile, rheology, in vitro digestibility, solubility and sanitary quality; also electrophoretic pattern and lactose content of milk protein sources.

Results: Protein content was 88.1-98.2% for MSP, 79.6-87.5% for whey protein sources, >85% for soy and pea and <30% for amaranth source. MSP were 6 times more expensive than these of the food industry protein concentrates. Solubility at pH 7.5 was >90% for whey-containing Hilmar™ 9010 and Isopure®, 76% for casein-MSP, whey (WPC80®) and soy isolate and <45% for amaranth and pea. Casein- and whey-based sources were pure and presented corrected amino acid scores of 0.92 and 0.97, respectively, while for plant protein sources the score was 0.75-0.78 because of limited amino acids or lower digestibility.

Conclusions: Properties of the whey protein isolate Hilmar™ 9010 were comparable or better to these of clinically used MSP, but with better solubility, <1% lactose and higher microbiological quality, and could be an accessible home-use lower-cost alternative.

Keywords: Modular protein supplements, critically ill patients, high protein formulas, food industry ingredients.

1. Introduction

The protein lost is high in critically ill patients depending on the severity of disease; therefore, a supply of 1.2-2.5 g protein/kg/d may improve morbidity and mortality in the intensive care unit (ICU) (Heyland et al., 2019). However, commercial standard enteral formulas (EF) only contain 16-25% calories from protein to provide up to 0.7 g/kg/d, and even 0.44 g/kg/d for our patients (Ibarra-Pastrana et al., 2021). Among seven commercially available high protein EF in Mexico, only three provide 27-32% calories from protein and they are quite expensive.

EF are medical foods designed for administration through feeding tubes under supervision of a physician for the specific dietary management of a disease or condition (Cederholm et al., 2017). Their protein source and quantity impact gastric tolerance, absorption and therefore affect protein losses in patients in the ICU. Additionally, it is important to avoid energy overfeeding of critically ill patients; thus, the recommendation is 70% intake of energy expenditure. Accordingly, the addition of modular protein supplements (MPS) to standard EF could meet the nutrient requirements and prevent overfeeding (Heyland et al., 2019).

The MPS used for clinical treatments especially at the ICU are not widely always available and some of them have limited functional properties. For instance in our area, there are only three MPS all of them casein-based, which solubilize slowly and their rheology is not the best. Whey-based MPS have better physical properties and they have excellent results for feeding critically ill patients (Hopkins et al., 2019), and plant proteins have emerged as interesting alternatives in food process. Therefore, whey-protein concentrates as well as plant-protein isolates used in the food industry could be good alternatives to MPS for clinical enteral nutrition. In addition to high solubility, protein concentration, and digestibility, MPS require form a permanent suspension in the EF, a high nutritional quality, excellent sanitization, and accessible cost. Therefore, we explore alternatives to MPS in the Mexican market to evaluate the cost-effective and safe way to fulfil the protein requirements of patients at an ICU. Our aim was to evaluate the physicochemical and nutritional properties of protein sources used as ingredients in the food industry in comparison to these used as clinical MPS.

2. Materials and Methods

2.1. Materials and chemicals

Commercial MPS, three casein-based for medical and one whey-based for athletes' diet were purchased from local drugstores: Proteinex® (Victus Inc, Florida, USA), Casec® (Nestlé, Mexico), Protebyn® (Fresenius Kabi, Mexico) and Isopure® (Nature's Best, USA). Proteins used in the food industry were a whey isolate (Hilmar™ 9010) donated by Leben-Tech (Mexico) and a whey concentrate (WPC80®), soy isolate (SoyPro950®), pea and amaranth protein concentrates, kindly donate by Food Proteins (Mexico).

All proteins powder were store sealed at room temperature as labels indicated, upon opening; samples were taken under sterile conditions. All chemical were purchased from Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). The rest of chemical and reagents were of analytical grade.

2.2. Chemical composition

2.2.1. Protein content

Protein content (%) of samples both for clinical or food industrial use were analyzed by micro-Kjeldahl (Met. 46-10, AACC, 2000).

2.2.2. Amino acid analysis

One casein-based and one-whey based samples, as well as pea and soy protein ingredients were hydrolyzed with 6 M HCl at 110°C for 24 h and amino acids derivatized using o-phthalaldehyde (OPA). Thus, the amino acids were analyzed by HPLC according to Vázquez-Ortiz et al (1995).

2.2.3. Electrophoretic analysis

SDS-PAGE was performed on 17% polyacrylamide gels according to Laemmli (1970). All the milk protein samples (2 mg/mL) plus SDS sample buffer (1:1) and M.W. standards, were loaded onto the gel (5 µL) in a mini-Protean® cell and run for 75 min at 150 V. Gels were stained with Coomassie brilliant blue R-250.

2.2.4. Lactose content

Lactose (%) was quantified in all the milk protein samples by HPLC, according to 982-12 (AOAC, 2005)

2.3. Functional properties

2.3.1. Protein solubility

A protein dispersion (1:100 w/v) was stirred for 10 min, pH adjusted at 5.5, 6.5 or 7.5 and after 15 min, the solution was centrifuged 1400 xg for 10 min at 25 °C (Allegra™ 25R Centrifuge, Beckman Coulter, USA). Afterward, the supernatant protein concentration was quantified by the Lowry et al. (1951) method and the protein solubility percentage was calculated respect to the initial dispersed protein.

2.3.2. Rheological evaluation

Storage modulus (G') and loss modulus (G'') measurements were carried out using a strain-controlled rheometer (Discovery HR-2, TA Instruments, New Castle, DE, USA) in oscillatory mode and a flat plate geometry (40 mm diameter). Timesweep tests were recorded at 0.25 Hz and 5% strain at 37°C. The standard formula alone (Ensure®) and added with 5% whey protein WHP90IS Hilmar® were monitored for 10 h.. Results were compared with those of a high protein formula Nepro HP® rheologically investigated under the same conditions. Deformation and frequency sweep tests were carried out to verify that time sweep measurements were made in the material's linear viscoelastic region, where stress and strain are proportional.

2.4. Nutritional properties

2.3.1. In vitro digestibility

In vitro protein digestibility by the 20 min pH-drop was evaluated by the method of Chang and Satterlee (1981). Purified casein (6.25 mg/mL) in 10 mL MilliQ water was stirred for 1 h at 25°C, into the jacketed reaction cell. Temperature was increased at 37°C by circulating water, and pH adjusted at 8. After equilibrium, 1 mL enzyme solution (trypsin, chymotrypsin, and peptidase) was added still stirring for 10 min. Protease was added and immediately the circulation water was changed at 55°C for 9 min and then temperature decreased at 37°C for 1

extra min and pH drop recorded. pH should be 6.42 ± 0.05 . After the casein control was right, all the samples in the same protein concentration were run and digestibility was calculated as:

$$\% \text{ digestibility} = 234.84 - 22.56 (X)$$

X = pH after 20 min hydrolysis

2.3.2. Amino acid score

The amino acid concentration of each sample was used to calculate the nutritional quality as indispensable amino acid score, and a corrected by *in vitro* digestibility amino acid score of each protein source. Each amino acid score (mg/g protein) was calculated using the amino acid pattern for children older than 3 years, adolescents, and adults (FAO, 2013). Each value was multiplied by its *in vitro* digestibility to obtain a corrected amino acid score.

2.5. Microbiological quality

Microbiological analyses were applied to the protein ingredients used in the food industry (whey, soy, pea and amaranth protein isolates and concentrates). Mesophilic aerobic bacteria were analyzed by the NOM-092-SSA1-1994 as colony forming units (CFU/g) at 35 ± 2 °C for 48 h, and total yeast and molds according to NOM-111-SSA1-1994 (CFU/g), after 5 days at 25 ± 2 °C. Total Viable Counts (TVC/g) of fecal coliforms were analyzed (Feng et al., 2020).

3. Results

3.1. Protein content, costs, and solubility of nine products

Table 1 shows that the three casein-containing MSP contain higher protein content than it labeled, and their cost is high (3.8-11 USD). The cost of Isopure®, a whey-based dietary supplement for athletes is high for its alternative home-use as MSP. The whey-protein concentrate WPC80® and isolate Hilmar™ 9010, as well as the soy isolate (SoyPro 950®) and the pea-protein concentrate used as ingredients in the food industry, present a protein level comparable to it of MSP products and cost six time less (0.6-1.8 USD). The amaranth product is not a true concentrate, contains less than 30% protein, although its cost is low.

Solubility profiles of all the nine samples at pH 5.5, 6.5 and 7.5, the general pH of standard

formulas, were evaluated. They were three casein-based MSP (Casec® , Protebyn® and Proteinex®) a whey-based dietary supplement (Isopure®), two whey-based food ingredients (WPC80® and Hilmar™ 9010) and three plant origin SoyPro 950® isolate, pea, and amaranth concentrates. Hilmar™ 9010 and Isopure® had more than 90% solubility along the pH range. WPC80®, Casec®, Protebyn® and Proteinex® increased from 70% to 86% from pH 6.5 to 7.5. In contrast, the solubility of plant proteins was poor, with less than 45% for amaranth and pea, except for SoyPro 950® isolate with 40, 45, and 51% at pH 5.5, 6.5 and 7.5, respectively.

3.2. Microbiological quality

Analysis of the 5 ingredients used in food industry shown some limitations to be directly included as alternative MPS for feeding patients by enteral nutrition. Pea, amaranth and soy presented yeast over the maximal referred content (*Codex Alimentarius*, 2009), while the whey protein concentrates, WPC80 ® was higher in mesophilic aerobic and Hilmar™ 9010 was 100% hygienic without any contaminant.

3.3. Nutritional quality of the protein in each type of product

FAO (2013), considers lysine (Lys), sulfur amino acids methionine and cysteine (Met and Cys), threonine (Thr) and tryptophan (Trp) as representative indispensable amino acids because they are limited in some protein sources. Content of these indispensable amino acids in each protein type (casein and whey proteins, as well as soy isolate, pea and amaranth) used in samples of MPS, dietary supplement and food ingredients are shown in Table 2. It also presents the obtained results of *in vitro* digestibility (as mean for casein- and whey products), and calculated digestibility corrected amino acids score for all the ages over 3 years old. Firstly, Lys was not limited for any of the protein sources, sulfur amino acids (Met and Cys) were limited for both legume proteins soy and pea, while Thr and tryptophan Trp were not limited at all. The *in vitro* digestibility values were generally good, except for amaranth (79.3%); therefore, the corrected amino acid score was high (0.92 and 0.97) for caseins and whey, while the plant proteins ranged 0.75 to 0.79.

3.4. Properties of the milk protein-containing products

SDS-PAGE patterns in Figure 1, show that Proteinex®, Protebyn® and Casec® in lanes 2,

3 and 5, respectively, are electrophoretically pure cow milk caseins with apparent molecular mass from 28 to 39 kDa, including α -, β -, and κ -caseins. In addition, Isopure®, WPC80®, and Hilmar™ 9010 in lanes 4, 6 and 7 are whey proteins with α -lactalbumin (21.5 kDa) and β -lactoglobulin (14.5 kDa) and some traces of albumin at 66.2 kDa.

Lactose content was quantified only in the two whey protein samples WPC80®, and Hilmar™ 9010 used as food ingredients, because the rest are brands already used for medical and special dietary purposes. WPC80® contained 2.3% and Hilmar™ 9010 contained 0.5% lactose.

3.5. Viscosity and stability of the whey concentrate Hilmar added to an enteral formula

Rheological characterization of formulations helps to understand the behavior of formulations at rest and under stress conditions for estimation of storage stability and spreading behavior. In this regard, the formulations viscoelastic properties define if that material is more liquid or more solid-like. The storage modulus (G') represents the elastic (solid-like) while the loss modulus (G'') the viscous (liquid-like) behavior. In the present study, G'' of the Hilmar™ 9010-containing Ensure® (panel A) after 10 h at 37°C was 0.058 Pa, which was slightly higher than that of Ensure® alone (panel B) with G'' of 0.033 Pa. However, in comparison to G'' of 0.154 Pa for the high protein formula Nepro HP® (panel C), the home-enriched Ensure® had a considerably lower viscosity. For the three evaluated products, the G'' value was predominant over G' as it is shown in Figure 2, confirming their liquid-like behavior.

4. Discussion

Critically ill patients under catabolic stress need high protein enteral formulas, which have low commercial availability and are quite expensive in some places. Thus, it could be less expensive and practical to add extra protein to standard EF by using MPS according to individual requirements and physiological conditions. Our aim, was to look for high-quality protein ingredients used for food industrialization as alternatives to design commercial MPS, and it was not as feasible as previously considered. We were able to obtain only 5 different samples, 2 whey protein concentrates and 3 plant protein ingredients. All of them contained more than 80% protein except the amaranth concentrate and their cost was 6 times less expensive than it of the designed medical MPS.

A key physical property of the protein ingredients to be used as MPS for EN enrichment is solubility, which was very high along the evaluated pHs for the whey isolate Hilmar™ 9010. It may influence not only rheology and the tube flow in EN, but absorption, utilization of nutrients and patient's clinical outcomes (Ojo et al., 2020). Casein could transform into solid clots in the acidic environment of the stomach, slowing gastric emptying, while whey protein remains soluble. It may be associated to the higher than 30% incidence of tube feeding intolerance in the ICU presented as gastrointestinal symptoms when insoluble proteins at acidic pH are used (Hopkins et al., 2019).

Some medical foods contain partial or total soy isolates or pea protein concentrates (Goelen et al., 2021); in fact, Ensure® a common used EF contains casein and soy proteins and their stability are rather good. The plant-based protein ingredients analyzed in the present study perhaps there were not the right ones to be used in liquid formulations. Currently, they present different physicochemical properties, according to their applications. The evaluation in the present work could be applied to one wider range of ingredients looking to optimize cost-benefice for alternative home-used MPS at the ICUs in developing countries.

An important issue of protein enrichment with both home-made or commercial clinical MPS of the standard enteral formulas is the sterility from preparation to patient delivery, which could induce gastrointestinal disturbances because contamination (Sinha et al., 2020). Perhaps the additional work to prepare the blends preserving sterility is one of the reasons because modular protein supplies are not well accepted by the nursing staff in some hospitals in Canada (Hopkins et al., 2019). In other countries, hospitals prepare EN formulas by dilution of commercial powders and in the study of one Iranian hospital, pretty soon formulas become contaminated with pathogen bacteria (Baniardalan et al., 2014). Therefore, it is necessary to apply protocols to preserve microbial safety for preparation and handling of EN formulas. Sterilization by microwaves can be easy and fast, but some blends increase viscosity, as it was ours which increased from 0.058 to 1.93 Pa sec, after this sterilization procedure. Our proposed whey protein isolate Hilmar™ 9010 is sterile and also the standard enteral formula does; therefore, the mix could be done close to a flame or under UV hood to maintain this quality.

For enteral nutrition of critically ill patients, a low viscosity is indispensable to allow an

adequate flow through the feeding tube. The whey protein Hilmar™ 9010 added to Ensure® in our study to reach to 38% calories from protein, only increased the viscosity of the enteral formula alone from 0.033 to 0.058 Pa, in comparison to 0.158 Pa of the high protein commercial enteral formula. Currently, the blends for EN have higher levels of viscosity than the commercial EN formulas (Ojo et al., 2020), it was not for our blend. We did not add any emulsifier to our preparation because it was enough with the soy lecithin of Ensure® to maintain stability for 10 h; currently the change of formulas is done each 6-8 h.

The addition of MPS to a standard EN formula for critically ill patients should provide a good-quality protein respect to quantity and quality of indispensable amino acids. Our whey protein samples, showed the highest *in vitro* digestibility and therefore, the best amino acids' score. Currently, the whey protein isolates have good solubility and dispersibility allowing the *in vitro* and *in vivo* digestibility. In addition, their indispensable amino acids profile is perfect, with high sulfur-containing amino acids to contribute as an antioxidant and potentiate the immune function (Gala et al., 2020). As presented in results, the analyzed plant-based proteins were limited in the sulfur amino acids, except for amaranth, with low protein concentration and poor solubility.

In addition to physicochemical and nutritional properties, there are additional exams which any ingredient for medical food must be met prior to administration. Lactose is an abundant milk disaccharide widely recognized as a dietary trigger for gastrointestinal disruption (Bae et al., 2021), inducing an osmotic effect that can lead to bloating and diarrhea. Therefore, EN formulas and MPS should be lactose free. The very low lactose concentration of the whey isolate Hilmar™ 9010 classify it as a lactose-free product.

The selection of the protein source in nutritional support depends on multiple factors ranging from the characteristics of the population and access to input. High-protein EN formulas and MPS might be the easier option; however, those are not always affordable.

Protein sources from food industry as Hilmar™ 9010 can be home-used as an alternative MPS because of its wide solubility, sanitization, nutritional quality, and viscosity when added to a standard EF.

5. References

AACC-Method 46-10. Final approval 8 Oct. 1976; revised 27 Oct. 1982 and 25 Sept. 1985. Crude protein – improved Kjeldahl method, copper catalyst modification.

AOAC. (2005). Official methods of analysis (18th ed.). Washington, DC. Association of Official Analytical Chemists.

Bae E, Kim J, Jang J, Kim J, Kim S, Chang Y, et al. Effects of a low-FODMAP enteral formula on diarrhea on patients in the intensive care unit. *Nutr Res Pract*. 2021 Dec;15(6):703-714. doi: 10.4162/nrp.2021.15.6.703

Baniardalan M, Sabzghabae AM, Jalali M, Badri S. Bacterial safety of commercial and handmade enteral feeds in an Iranian teaching hospital. *Int J Prev Med* 2014;5:604-10.

Cederholm T, Barazzoni R, Austin P, Ballmer P, Biolo G, Bischoff SC, et al. ESPEN guidelines on definitions and terminology of clinical nutrition. *Clin Nutr*. 2017 Feb;36(1):49-64. doi: 10.1016/j.clnu.2016.09.004

Chang, KC., Satterlee, LD., Isolation and Characterization of the Major Protein from Great Northern Beans (*Phaseolus vulgaris*). *J Food Sci*. 1981; 46 (5): 1368-1373

Codex Alimentarius (2009) CXC 66-2008, Code of Hygienic Practice for Powdered Formulae for Infants and Young Children

FAO. Dietary protein quality evaluation in human nutrition. Report of an FAO expert consultation. Food and nutrition paper no. 92. Rome, Italy: FAO; 2013.

Feng P., Stephen D., Grant M., Burkhardt W. Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. *Bacteriological Analytical Manual*, <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria#conventional>. Accessed 10 January 2022.

Gala K, Desai V, Liu N, Omer EM, McClave SA. How to Increase Muscle Mass in Critically Ill Patients: Lessons Learned from Athletes and Bodybuilders. *Curr Nutr Rep*. 2020 Dec;9(4):369-380. doi: 10.1007/s13668-020-00334-0. PMID: 33098051.

Goelen N, Janssen P, Ripken D, van Horssen P, Byloos K, Ghysels S, et al. Effect of protein composition of enteral formula on gastric content volume during continuous feeding: A randomized controlled cross-over study in healthy adults. *Clin Nutr.* 2021 May;40(5):2663-2672. doi: 10.1016/j.clnu.2021.03.021.

Heyland DK, Patel J, Bear D, Sacks G, Nixdorf H, Dolan J, Aloupis M, et al. The Effect of Higher Protein Dosing in Critically Ill Patients: A Multicenter Registry-Based Randomized Trial: The EFFORT Trial. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2019 Mar;43(3):326-334. doi: 10.1002/jpen.1449

Hopkins B, Cohen SS, Irvin SR, Alberda C. Achieving Protein Targets in the ICU Using a Specialized High-Protein Enteral Formula: A Quality Improvement Project. *Nutr Clin Pract.* 2019; doi: 10.1002/ncp.10364

Ibarra Pastrana E, Serralde Zúñiga AE, Calderón de la Barca AM. Déficit energético y proteico crítico con gran aporte de calorías provenientes de fármacos tras una semana en una unidad de cuidados intensivos. *Nutr Hosp* 2022;39(1):1-7; doi: [10.20960/nh.03734](https://doi.org/10.20960/nh.03734)

Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970 Aug 15;227(5259):680-5. doi: 10.1038/227680a0.

Lowry, OH., Rosebrough, NJ., Farr, AL., and Randall, RJ. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent (1951) *J. Biol. Chem.* 193, 265–275

Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.

Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.

Ojo O, Rodrigues A, Adegboye A, Ojo OO, Wang X, Brooke J. An Evaluation of the Nutritional Value and Physical Properties of Blenderised Enteral Nutrition Formula: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients* 2020, 12, 1840; doi:10.3390/nu12061840

Sinha S, Lath G, Rao S. Safety of Enteral Nutrition Practices: Overcoming the Contamination

Challenges. *Indian J Crit Care Med* 2020;24(8):709–712. doi: 10.5005/jp-journals-10071-23530

Vázquez-Ortiz, FA.; Caire, G.; Higuera-Ciapara, I. and Hernández, G. High Performance Liquid Chromatographic Determination of Free Amino Acids in Shrimp. *J. Liq. Chrom.* 18(19):2059-2068, 1995. doi: 10.1080/10826079508013960

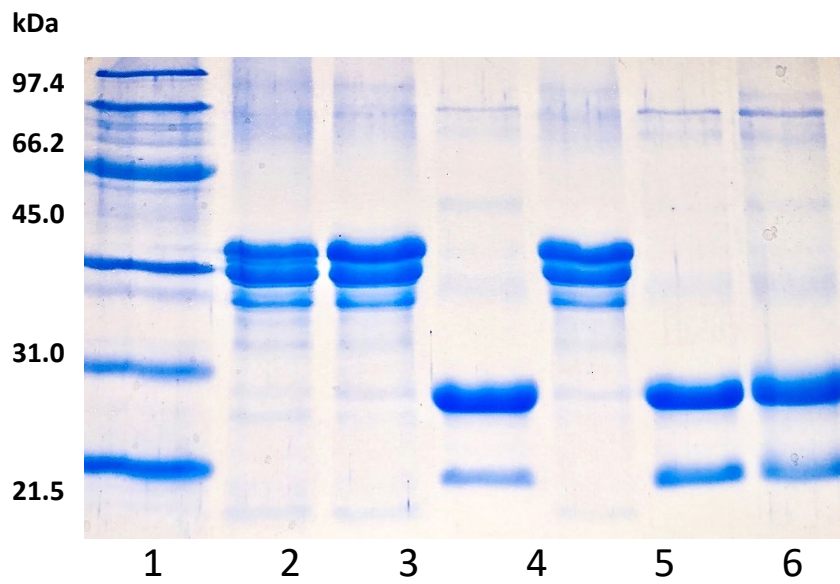


Figure 1. SDS-PAGE patterns of MSP products, a dietary supplement and two proteins concentrates used as food ingredients. Lanes 1: molecular weight standards; 2: Proteinex®; 3: Protebyn®; 4: Isopure®; 5: Casec®; 6: WPC80®; and 7: Hilmar™ 9010.

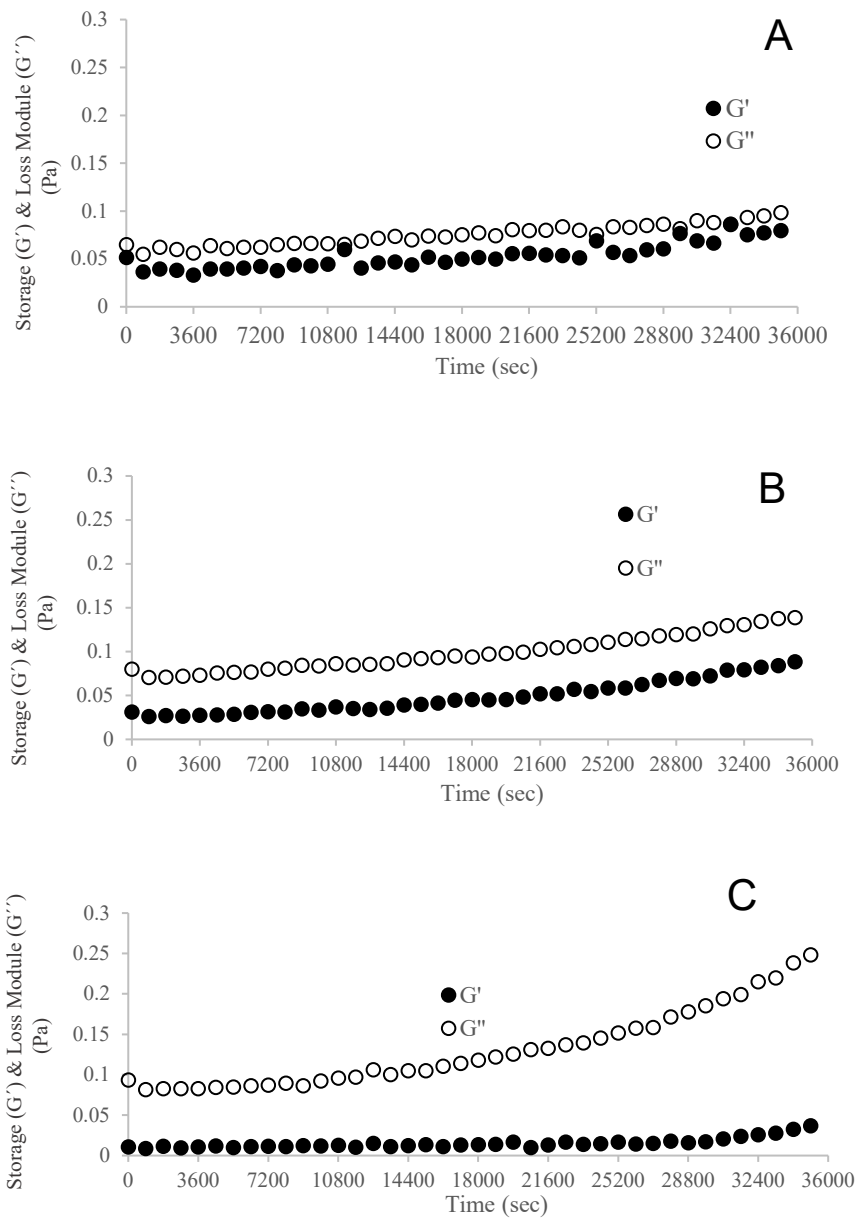


Figure 2. Rheological time sweep at 5 % strain, 0.25 Hz and 37°C of A: commercial enteral formula Ensure®, B: Ensure® + Hilmar™ 9010, and C: High protein commercial enteral formula Nepro HP®. Storage (G' , ●) and loss (G'' , ○) moduli.

Table 1. Commercial name, protein source, content, and cost of modular protein supplements for medical purpose as well as ingredients for the food industry

Brand	Protein source	Labeled Protein (%)	Analyzed Protein (%)	Cost/100 g (US dollar)
Proteinex®	Casein	90	98.2	8.2
Protebyn®	Casein	90	94.7	5.4
Casec®	Casein	86.5	88.1	6.8
Isopure®	Whey	80.6	79.6	6.5
WPC80®	Whey	80	84.5	1.1
Hilmar™ 9010	Whey	87.5	88.4	1.1
SoyPro 950®	Soybean	90	91.7	0.5
Protein concentrate	Pea	80	86.9	1.2
Protein concentrate	Amaranth	39	27.2	0.6

Table 2. Content of representative indispensable amino acids in each protein type used in samples of modular protein and dietary supplements and food ingredients.

Protein source	Lys	SAA*	Thr	Trp*	In vitro digestibility	Corrected AA score
Req. > 3 y	48	23	25	6.6		
Caseins	75.9	30.1	43.3	12.2	91.5	0.92
Whey	86.2	36.9	50.4	20.6	96.5	0.97
Soybean	65.8	18.7	39.2	13.8	92.1	0.75
Pea	58.1	21	37.1	6.7	86.9	0.79
Amaranth	54.6	30.7	40.7	13.3	79.3	0.79

*SAA: sulfur amino acids (Met + Cys) where Cys concentration was taken from published tables and also Trp.