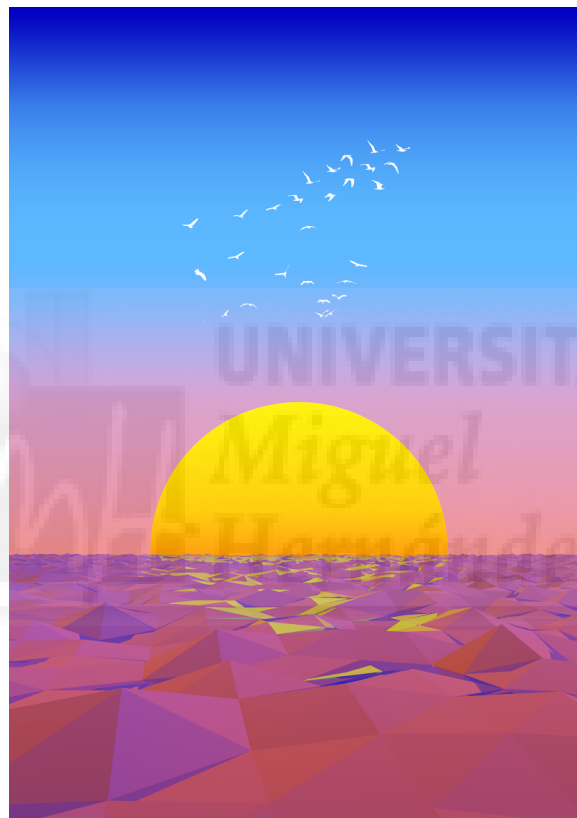


VALIDACIÓN DE CUESTIONARIOS DE FRECUENCIA DE CONSUMO ALIMENTARIO EN POBLACIONES MEDITERRÁNEAS



Tesis Doctoral

Daniel Giménez Monzó

Dirección

Manuela García de la Hera, Jesús Vioque López y

Eva María Navarrete Muñoz



Dr. Ildfonso Hernández Aguado, Director del Departamento de Salud Pública, Historia de la Ciencia y Ginecología de la Facultad de Medicina de la Universidad Miguel Hernández

CERTIFICA

Que **D. Daniel Giménez Monzó** ha realizado bajo la coordinación de este Departamento su memoria de tesis doctoral titulada “**Validación de cuestionarios de frecuencia de consumo de alimentos en poblaciones de la cuenca mediterránea**”. De acuerdo a la información recibida sobre las evaluaciones previas realizadas en cumplimiento de la normativa general vigente y la propia de la Universidad Miguel Hernández y según lo certificado por la(s) persona(s) que han realizado la tutoría y dirección, la tesis cumple los requisitos para proceder a su defensa pública.

Lo certifico en Sant Joan d’Alacant, a de de dos mil dieciséis

Ildfonso Hernández Aguado

Director del Departamento



Manuela García de la Hera, Jesús Vioque López y Eva María Navarrete Muñoz, directores de tesis y profesores del Departamento de Salud Pública, Historia de la ciencia y Ginecología de la Facultad de Medicina de la Universidad Miguel Hernández

CERTIFICAN:

Que D. **DANIEL GIMÉNEZ MONZÓ**, ha realizado bajo nuestra supervisión su memoria de tesis doctoral titulada “**Validación de cuestionarios de frecuencia de consumo de alimentos en poblaciones de la cuenca mediterránea**” cumpliendo todos los objetivos previstos, finalizando su trabajo en forma satisfactoria para su defensa pública y capacitándole para optar al grado de Doctor.

Lo que certificamos en Sant Joan d’Alacant, a de de dos mil dieciséis

Fdo: Manuela García de la Hera

Fdo: Jesús Vioque López

Fdo: Eva M^a Navarrete Muñoz

PRESENTACIÓN

Esta tesis doctoral se desarrolla dentro de una de las líneas de investigación del Grupo de Epidemiología de la Nutrición (EPINUT; Anexo III) de la Universidad Miguel Hernández liderado por el profesor Jesús Vioque, en el que colabora también la profesora Manuela García y la investigadora postdoctoral Dra. Eva María Navarrete Muñoz. Un antecedente de esta investigación se produce en el año 1996 con la encuesta de salud de la comunidad valenciana y la encuesta de salud de Orihuela donde se desarrolló y validó un Cuestionario de Frecuencia Alimentaria (CFA) como paso previo necesario para evaluar la dieta en población adulta Valenciana (Vioque and Quiles, 2003).

Me incorporé al grupo de investigación en el año 2007 y de forma paralela a la realización de trabajo de campo completé mi formación en el Máster de Salud Pública donde pude trabajar en la línea de investigación sobre la validación de cuestionarios de frecuencia alimentaria (CFA) y desarrollar esta tesis doctoral en formato de artículos dentro de diversos proyectos en los que se utilizaban CFA adaptados a las características de diferentes poblaciones (El Estudio INMA-Valencia y el Estudio DiSA-UMH, Anexo IV y Anexo V). En ambos estudios de cohortes prospectivos, uno de los objetivos principales era evaluar las posibles relaciones entre la dieta y el estado de salud, para ello se desarrollaron y validaron 3 herramientas para medir la dieta de tres poblaciones diferenciadas, madres e hijos en el estudio INMA y población adulta joven en el Estudio DiSA-UMH. Esta tesis doctoral se centra pues en la validación de los CFA como instrumentos de evaluación dietética con la tesis de que es posible alcanzar un grado satisfactorio de validez para medir la dieta de forma fiable cuando se comparan sus resultados con otros instrumentos de evaluación dietética o con determinaciones plasmáticas, los cuales se consideran como método de referencia (*gold standard*).

La tesis se basa en un primer trabajo ya publicado, en la revista Nutrition Journal perteneciente al Q2 del área de NUTRITION & DIETETICS (FI: 2.597) y en otros dos trabajos cuyos análisis ya se han elaborado y que están en fase de revisión entre coautores para su pronta remisión inmediata:

1. Jesús Vioque, Eva-María Navarrete-Muñoz, Daniel Gimenez-Monzo, Manuela García de la Hera, Fernando Granado, Ian S Young, Rosa Ramón, Ferrán Ballester, Mario Murcia, Marisa Rebagliato, Carmen Iñiguez and INMA-Valencia Cohort Study. Reproducibility and validity of a food frequency questionnaire among pregnant women in a Mediterranean area. Nutrition Journal 2013; 12:26.

Anexo I

Jesús Vioque, Daniel Gimenez-Monzo, Eva María Navarrete-Muñoz, Sandra Gonzalez-Palacios, Manuela García de la Hera, and INMA-Valencia Cohort Study. Reproducibility and validity of a Food Frequency Questionnaire to assess diet in children aged 4-5 years.

Anexo II

Daniel Gimenez-Monzo, Eva María Navarrete-Muñoz, Manuela García de la Hera, Sandra González-Palacios, Desirée Valera-Gran, Jesús Vioque. Reproducibility and validity of a semiquantitative food frequency questionnaire in Mediterranean Spanish young adults.



AGRADECIMIENTOS

Aún recuerdo perfectamente la cara de Jesús Vioque cuando entré a su despacho mi primer día como becario con el brazo en cabestrillo allá por enero de 2007, ya han pasado algunos años. Muchas gracias a Manoli García, Jesús Vioque y Eva María Navarrete por hacer posible esta tesis:

Gracias a Jesús Vioque por tener siempre la puerta abierta para lo que sea y por “ponerme las pilas” cuando lo necesitaba, gracias por darme la oportunidad de ser parte de EPINUT y de formarme como diplomado, graduado y máster.

Gracias Manoli por darme la oportunidad de impartir docencia e iniciarme en ello, eres un ejemplo de fuerza y coraje, ojalá algún día llegue a transmitir en docencia como lo haces tu.

Son tantas las personas a las que tengo que agradecer tantas cosas:

Gracias a Manuel Gallar y Juan Maestre por despertar mi pasión por la nutrición y la epidemiología en el módulo superior de dietética.

Gracias a todos los que habéis pasado por aquí: Tanja, Laura Asensio, María Dolores, Nati, Pablo Juan. Gracias a los investigadores EPINUT, sois todos unos “cracks”: Sandra González, Laura Torres, Desirée Valera, Alex Oncina, Alex Scholz, Laura Company y la “nueva hornada” de jóvenes investigadores.

Gracias a Rocío Ortiz por darme la oportunidad cada año de enseñar a las estudiantes del Grado de Nutrición Humana y Dietética acerca de epidemiología de la nutrición y de validación de cuestionarios de frecuencia de consumo de alimentos.

Gracias a José Antonio Rodríguez, Ignacio Aguado y Aitor Sánchez por aquellos maravillosos años como compañeros de piso en San Vicente del Raspeig. Gracias Aitor por despertar mi espíritu crítico.

Gracias a mis padres por apoyarme y ayudarme siempre en las decisiones más difíciles. Gracias a mi hermano Rubén por darme ánimos y fuerzas cada mañana, día a día durante tantos años.

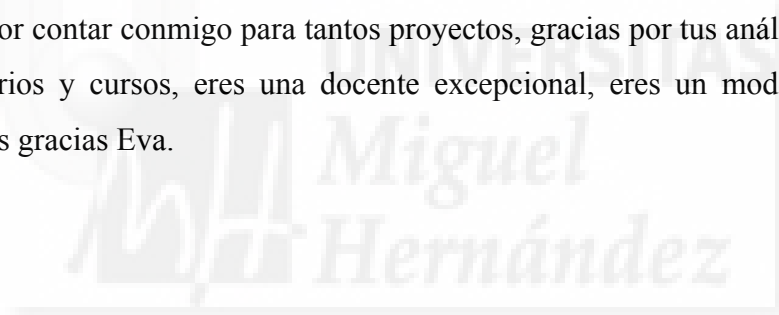
Gracias Raquel por compartir conmigo estos maravillosos 5 años, los 5 mejores años de mi vida y todo lo que nos queda por delante, gracias por apoyarme absolutamente en todo,

sin ti no lo habría logrado, gracias por aguantarme tantas y tantas horas encerrado en casa delante del ordenador.

Gracias a todo el Departamento de Salud Pública, Historia de la Ciencia y Ginecología y especialmente a Joaquín y María José por su impecable gestión.

Gracias a todos los participantes del Estudio INMA y a sus investigadores, muchas gracias a todos los estudiantes de DiSA-UMH llevamos con ellos desde el 2006 y siguen colaborando en este estudio, admirable. Muchas gracias a todos los coautores de los artículos que conforman esta tesis.

Y no, no he olvidado a la persona que mas me ha inspirado, una persona a la que admiro y de la que más he aprendido en cuanto a docencia e investigación. Eva María Navarrete, gracias por apoyarme y ayudarme cada día durante estos 9 años, tu fuerza, ímpetu y ganas de hacer son una inspiración diaria. Muchas gracias por compartir conmigo tantos y tantos momentos, gracias por las sintaxis de R, gracias por enseñarme a trabajar con Excel y SPSS, gracias por contar conmigo para tantos proyectos, gracias por tus análisis, tus clases de Máster, seminarios y cursos, eres una docente excepcional, eres un modelo a seguir. De corazón, muchas gracias Eva.



	Página
1. Lista de Abreviaciones	01
2. Introducción	03
2.1. Epidemiología de la nutrición	04
2.2. Evaluación individual y poblacional de la dieta	05
2.3. Dieta y enfermedad	06
2.4. Métodos de evaluación dietética	07
2.4.1. El recordatorio de 24 horas	08
2.4.2. El registro de dieta	08
2.4.3. Historia dietética	09
2.4.4. Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos	09
2.5. Validación de cuestionarios de frecuencia de consumo de alimentos	11
2.6. Estadísticos para la evaluación de la validez y la reproducibilidad	15
2.7. Ajuste por calorías mediante el método de los residuos de Willett	18
2.8. Selección de estudios de validación	19
3. Justificación	25
4. Contexto	27
5. Hipótesis	29
6. Objetivos	31
7. Metodología General	33
7.1. Embarazadas	33
7.2. Niños de 4 años	35
7.3. Estudiantes universitarios	36
7.4. Análisis estadísticos	39
8. Resultados	43
8.1. Artículo 1. <i>Nutrition Journal</i> 2013; 12:26.	43
8.2. Artículo. Validez de CFA en niños 4 años (en preparación).	53
8.3. Artículo. Validez de CFA en estudiantes universitarios (en preparación).	59
9. Discusión general	65
10. Conclusiones	73
11. Implicaciones para la Salud Pública	75
12. Bibliografía	77
13. Anexos	85

1. LISTA DE ABREVIACIONES

CFA: Cuestionario de Frecuencia de Alimentos

CFA1: Primer Cuestionario de Frecuencia de Alimentos

CFA2: Segundo Cuestionario de Frecuencia de Alimentos

CFAav: Media de los Cuestionario de Frecuencia de Alimentos

24HR: Recordatorio de 24 horas

24HRav: Media de los recordatorios de 24 horas

FD: registros de dieta

BM: biomarcador de ingesta dietética

BMI: Índice de masa corporal

r: coeficiente de correlación





2. INTRODUCCIÓN

La relación entre la dieta y la enfermedad ha sido y es objeto de investigación de grandes estudios epidemiológicos (*Nurses' Health Study I y II* Willett, 1998; Estudio PREDIMED Martínez-González et al., 2012; Estudio INMA Guxens et al., 2012), en los que se han investigado relaciones de la dieta en relación con enfermedades crónico-degenerativas en distintas poblaciones (Estruch et al., 2013; Miller et al., 2004; Vioque et al., 2008; Willett et al., 1993).

En este sentido, la dieta como exposición o factor de riesgo para un determinado estado de salud, resulta muy difícil de medir en humanos. Esto se debe a la complejidad intrínseca y diversidad de elementos de la propia dieta (patrón, grupos de alimentos, alimentos específicos, ingesta de energía, nutrientes sustancias no nutritivas, antioxidantes, contaminantes), a las características de los propios individuos que conforman una población, al tiempo en el cual se evalúa la dieta (dieta habitual y dieta actual) y a la variabilidad de la misma (interindividual e intraindividual).

En este sentido existen diversos métodos de evaluación dietética a nivel individual en poblaciones humanas, siendo el cuestionario de frecuencia de alimentos (CFA) la herramienta más ampliamente utilizada en la mayoría de situaciones y en estudios epidemiológicos donde se desea relacionar la dieta habitual en el pasado con un determinado estado de salud. La estructura básica de un CFA consiste en un listado de alimentos de uso común junto a una frecuencia de consumo para cada uno de ellos. Si bien han sido muchos los CFA desarrollados a nivel internacional, son pocos los desarrollados y validados para evaluar la dieta en población Española y en general, en países mediterráneos que suelen presentar muy buenas expectativa de vida y por tanto la dieta tiene un interés especial por sus posibles efectos beneficiosos. El contar con herramientas como el CFA capaces de medir la dieta de forma fiable, es decir de forma reproducible y válida, en poblaciones de la cuenca Mediterránea resulta pues de especial importancia para poder evaluar el posible papel de la dieta, y en especial del patrón de dieta tradicional mediterránea y sus componentes principales sobre el estado de salud. A continuación se hace una breve presentación acerca de las características y uso de los CFA, en cuanto a su historia, tipología, validación, y utilidad/uso en estudios de dieta-estado de salud.

Historia

La epidemiología clásica trató de forma amplia el patrón de enfermedades infecciosas y carenciales desde principios del siglo XIX, pero junto al desarrollo socioeconómico del siglo XX se produjo un cambio en los estilos de vida, en las exposiciones y por consiguiente en la forma de enfermar. Así las enfermedades con largos periodos de latencia (ej. enfermedades

cardiovasculares, cáncer, diabetes) y múltiples factores de riesgo, como los nutricionales, se convirtió en el patrón de enfermedades occidental predominante.

Junto al cambio en la forma de enfermar la epidemiología avanzó en el estudio de la medición de las nuevas exposiciones entre ellas la dieta. El desarrollo y perfeccionamiento de las técnicas para evaluar la dieta en poblaciones pasó por hacer frente a la complejidad intrínseca de la dieta como un conjunto de exposiciones intercorrelacionadas.

Los primeros estudios en los que se desarrolló la metodología de evaluación de dieta mediante CFA surgieron en el año 1947 cuando Burke y colaboradores dentro de un método de evaluación dietética amplio denominado historia dietética incluyó por primera vez un listado de alimentos (Burke B et al., 1947). Fue este el inicio del uso del CFA como método de evaluación de la dieta habitual en el pasado, y aunque se usó durante las décadas de los 60 y 70 del siglo pasado no fue hasta el año 1976 donde se aplicó con fines epidemiológico (Nichols et al., 1976). A partir de este momento y durante la década de los 80 y 90, han sufrido diversas modificaciones, refinamiento y han sido aplicados a diferentes estudios epidemiológicos. Pero fue en la década de los 80 cuando el profesor Walter C. Willett, Director del Departamento de Nutrición de la Escuela Salud Pública de Harvard conceptualizó y fijó las bases de la epidemiología de la nutrición moderna, y potenció el uso de CFA validados como método de evaluación dietética preferible en la mayoría de situaciones donde hay interés en evaluar la dieta de los humanos para explorar relaciones dieta-enfermedad.

2.1. Epidemiología de la nutrición

La epidemiología de la nutrición es un campo de la epidemiología cuya finalidad es la evaluación de la dieta y el estudio de su relación con las enfermedades y el estado de salud en poblaciones humanas. El campo de actuación de la epidemiología de la nutrición es amplio y agrupa diferentes aspectos:

- La evaluación de las herramientas de evaluación de ingesta dietética (aspectos metodológicos)
- Descripción de la distribución y magnitud de las enfermedades relacionadas con la nutrición y la alimentación en poblaciones humanas así como la valoración del estado nutricional de las poblaciones y conocimiento de sus hábitos alimentarios (aspectos descriptivos)
- Medición y estudio del papel de los diferentes factores dietéticos en la etiopatogenia de diferentes enfermedades (aspectos analíticos)

- Estudio de los factores socioeconómicos y culturales que condicionan la alimentación humana, aportando la información necesaria para realizar labores preventivas, de monitorización y de intervención (aspectos evaluativos).

La evaluación o medición de la dieta y por lo tanto el diseño y evaluación de herramientas de evaluación dietética es un paso crítico en epidemiología de la nutrición, necesario para poder avanzar en esta disciplina.

En este sentido cabe destacar dos puntos que afectan a la investigación en epidemiología de la nutrición. Primero la distinción entre evaluación dietética individual y evaluación dietética grupal o poblacional. Y segundo entre precisión cuantitativa y clasificación o ranking de individuos. Por un lado la medición individual de la dieta reflejaría la ingesta dietética real del individuo de forma precisa. Por el contrario a nivel población tal exactitud no sería necesaria para investigar las relaciones dieta salud donde primaria la clasificación de los individuos dentro de la población según su nivel de ingesta (Kelemen, 2007).

2.2. La evaluación o medición de la dieta desde el punto de vista individual y desde el punto de vista poblacional.

A nivel individual la medición de la dieta va a permitir la comparación entre el factor dietético medido y el ajuste a las recomendaciones vigentes para sexo, edad, estado fisiológico (lo que se denomina adecuación nutricional), va a permitir clasificar a los individuos según su nivel de ingesta de dentro de la población y comparar entre ellos, y cuantificar la ingesta individual entre otros. Además las estimaciones nutricionales individuales van a permitir la evaluación de una determinada intervención nutricional (tratamiento dietético individualizado, programas de educación nutricional) una medición antes de la intervención, después de la intervención mide la adherencia a un determinado tratamiento dietético o cambio cuantitativo o cualitativo en la ingesta dietética tras la intervención. A su vez un conocimiento de la dieta individual reciente o a corto plazo permite indagar en las posibles relaciones entre la ingesta dietética y una enfermedad aguda, como puede ser una toxiinfección. La medición individual de la dieta tiene un interés primordialmente clínico.

Por otro lado la evaluación dietética de la población va a aportar datos acerca de la frecuencia y distribución de la ingesta dietética y estimar ingestas medias poblacionales de alimentos y/o nutrientes (macronutrientes y micronutrientes). Esto a su vez va a permitir conocer el cumplimiento e impacto de las recomendaciones dietéticas que establecen organismos nacionales e internacionales, como por ejemplo:

- Las ingestas recomendadas (IR).

- Los objetivos nutricionales, cuya finalidad es adecuar la ingesta dietética media de la población con el fin de prevenir enfermedades crónico-degenerativas (por ejemplo ingesta energética de grasa <35%).
- Las guías dietéticas que son la forma gráfica y accesible para toda la población de lograr las ingestas recomendadas y los objetivos nutricionales.

La evaluación o medición de la dieta en una población va a permitir crear un ranking o clasificación de individuos según su ingesta dietética lo cual es de especial interés para investigar las posibles relaciones entre la dieta y un determinado estado de salud.

2.3. Dieta, enfermedad, determinante de salud.

La salud y la enfermedad son estados de los individuos, resultado de la interacción de diversos determinantes. La dieta como factor determinante del estado de salud destaca por ser común a todos los individuos de una población y por ser una variable de exposición altamente compleja, ya que a diferencia de otras exposiciones no permite clasificarse como “expuesto” o “no expuesto” (todo el mundo come), sino como diferentes niveles de exposición a la dieta, a veces muy pequeños, lo que dificulta diferenciar la dieta entre distintos individuos. A su vez la dieta está influenciada por factores ambientales (económicos y sociales que influyen sobre la elección alimentaria, disponibilidad estacional), por factores individuales (metabolismo de los nutrientes, antropometría), por la propia composición de la dieta (alimentos, nutrientes, conservación, cocción etc....) y por la variabilidad en el consumo de alimentos de un individuo consigo mismo a lo largo del tiempo y entre distintos individuos de una población. Todo ello en conjunto dificulta en gran medida la evaluación o medición de la dieta.

La medición de la dieta habitual en el pasado permite investigar una posible relación con un determinado estado de salud, y en particular con las principales enfermedades crónico-degenerativas como cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares, obesidad. Estas se caracterizan por ser enfermedades multifactoriales con largos periodos de latencia, y entre los factores estudiados, la dieta ha sido ampliamente estudiada en su posible génesis a pesar que aún existen lagunas de conocimiento respecto al papel último que puede jugar (**Tabla 1**).

Tabla1. Ejemplos de algunas evidencias recientes entre la dieta y el riesgo de algunas enfermedades crónico-degenerativas.

Disminuye riesgo	Aumenta riesgo
Enfermedad Cardiovascular	
Dieta Mediterránea (DM)	AG trans, Sodio↑
Alta ingesta de frutas y verduras, pescado, frutos secos, soja	AG saturados (mirístico, palmítico)
	Alcohol (ingesta alta → AVC)
Cáncer	
Actividad física (colon, mama)	Suplemento β-caroteno (pulmón)
Frutas y verduras, legumbres	Sobrepeso (esófago, colonrecto, mama - postmenopáusica-, riñón, endometrio)
Alimentos ricos en fibra y vitamina D (colo-recto)	Alcohol (orofaringe-laringe-esófago-hígado-mama)
Diabetes tipo 2	
Perder peso en sobrepeso	Sobrepeso-obesidad
Actividad física regular	Sedentarismo
Obesidad	
Actividad física regular	Alimentos alta densidad energética (ej, azúcar refinado)
Frutas y verduras, fibra	Sedentarismo
DMAE/Cataratas	
AG omega 3 del pescado (Docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA))	AG trans (DMAE)
	Carne roja, procesada (DMAE)
<p>EC, enfermedad coronaria; AVC, accidente vascular cerebral; DMAE, Degeneración Macular de la retina por edad; AG, ácidos grasos; HdC Hidratos de Carbono; DM, dieta mediterránea</p> <p><i>MODIFICADO DE "Vioque J, Pastor MA y Galiana N. Nutrición y salud (II). En Hernández-Aguado I, Gil de Miguel A, Delgado Rodríguez M, Bolumar Montrull F. Manual de Epidemiología y Salud Pública 2ª Edición. Madrid, Editorial Médica Panamericana, 2011 (ISBN:978-849835-358-7) pp 191-196"</i></p>	

2.4. Métodos de evaluación dietética

Los métodos de evaluación dietética pueden clasificarse en dos grandes grupos según se mida la dieta de forma directa o indirecta en el individuo.

Los **métodos indirectos** evalúan la dieta en un grupo de individuos a nivel familiar y a nivel nacional basados en estadísticas rutinaria habitualmente recogidas para otros propósitos económicos o de mercado. Se basan en datos agregados que hacen referencia a un conjunto poblacional y suelen expresarse en cantidades per cápita (se divide la cantidad alimento bruto disponible para consumo por el número de individuos de la población). Ejemplos de métodos indirectos en España son las hojas de balance alimentario y las encuestas familiares

Los **métodos directos** hacen referencia a la recogida de información acerca del consumo de alimentos a nivel individual. Hay dos formas de recopilar información sobre la ingesta de alimentos en un individuo: 1. De forma retrospectiva haciendo que recuerde cual ha sido su

ingesta de alimentos en un tiempo pasado determinado o 2. De forma prospectiva, recopilando dicha información a medida que se consumen los alimentos. Estos son:

1. Los métodos directos retrospectivos de evaluación dietética que miden la dieta del individuo en el pasado: historia dietética, recordatorios de 24 horas (24HR) y CFA.
2. Métodos prospectivos que miden la dieta en el momento del consumo: los registros de dieta (FD).

2.4.1. Recordatorio de 24horas (*24 hour recall, 24HR*)

Es un método retrospectivo basado en la memoria a corto plazo (*Short-term*) de cuantificación de ingesta dietética individual en la cual un entrevistador (nutricionista) insta al individuo a recordar todos los alimentos que ha ingerido en el día anterior a la entrevista (*open-ended method*), estimando tamaño de la ración (por modelos visuales o medidas caseras), hora y lugar de consumo, ingredientes, tipo de cocción, marca comercial, con el fin último de cuantificar de forma completa la ingesta dietética del individuo en un día completo, el día previo a la entrevista.

Para describir la ingesta habitual de alimentos en los individuos (dieta habitual, *long-term diet*) son necesarios varios 24HR y lo habitual suele ser recoger dichos recordatorios en días no consecutivos, en distintos días de la semana y distintos meses del año para obtener una representatividad de la dieta habitual a largo plazo del individuo.

De entre los usos de los 24HR destaca su amplia utilización como método de referencia o *gold standard* en la validación de CFA y en la mayoría de la Encuestas de Nutrición y Salud que se realizan en países desarrollados para estimar ingestas media poblacionales (Cade et al., 2002).

2.4.2. Registro de dieta (*Food Dairy*)

Es un método prospectivo directo de cuantificación de dieta individual en la cual la persona registra todos los alimentos a medida que los va ingiriendo, para ello especifica un tamaño de ración, estimándola mediante medidas caseras o modelos visuales (registro por estimación), utilizando una balanza para pesar los alimentos (registro por pesada) o combinando ambos (registro por observación y pesada). Suele registrarse 1 día, 3 días o 7 días consecutivos, pudiendo, según el caso, repetir la medición en uno o varios periodos de tiempo.

El uso de los registros de dieta es relativamente amplio, aunque no tanto como el de los 24HR, debido a su mayor precisión respecto a los 24HR es un mejor método para validar otras herramientas de evaluación dietética, no obstante requiere de gran implicación por parte del sujeto entrevistado.

2.4.3. Historia dietética

Una historia dietética es la recopilación completa de la ingesta alimentaria en el pasado de un individuo por lo general suelen incluir una lista de alimentos para preguntar cantidad y frecuencia consumidos, y un FD de varios días (3 por lo general) y una entrevista detallada (habitualmente 24HR), su finalidad es conocer de forma cuantitativa la ingesta global del individuo y sus hábitos en relación con el consumo de alimentos así como la distribución de las comidas a lo largo del día. La historia dietética por su carácter retrospectivo y prospectivo, cuantitativo y cualitativo permite evaluar la dieta completa tanto habitual como actual, y el patrón de consumo de alimentos del individuo. Las historia dietéticas permiten estimar el patrón habitual de consumo de alimentos y estimar ingesta media habitual durante un periodo.

2.4.4. Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos

Un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos es una herramienta de evaluación dietética directa y retrospectiva (basada en la memoria genérica) que permite estimar la dieta habitual a largo plazo en el pasado de un individuo (y por consiguiente en un conjunto de individuos). En cuanto a su definición estructural es un listado de alimentos más o menos extenso para los cuales hay que referir su frecuencia de consumo para una cantidad determinada de alimento en un tiempo dado anterior a la fecha de realización del cuestionario.

Opciones de construcción del CFA

Crear el listado desde 0 o utilizar un CFA ya validado. Para incluir/excluir alimentos son útiles datos previos (encuestas, registros, recordatorios) acerca del patrón de consumo de alimentos, además estos alimentos incluidos deben ser aportadores significativos del nutriente de interés, de esta forma el alimento incluido ayudará a discriminar entre el consumo de los individuos.

Numero de ítems

Los cuestionarios con un número reducido de ítems se cumplimentan en unos pocos minutos y tienen como objetivo estimar la ingesta de unos pocos alimentos o nutrientes de

interés en un determinado estudio (Uenishi et al., 2008). Por el contrario los CFA con un número amplio de ítems proporcionan información amplia (exhaustiva) acerca de la ingesta dietética absoluta y de energía.

Tipo de ítems: raciones

Según el tipo de ítem, los CFA se clasifican en semi-cuantitativos, cuando se especifica una ración definida o se utilizar una ración de uso casero (Macedo-Ojeda et al., 2013); abiertos, cuando no se define a priori la cantidad del alimento, aunque se puede utilizar para ayudar maquetas o fotografías (Sharma et al., 2008); cualitativos, no preguntan o especifican el tamaño de la ración (De Keyzer et al., 2013) o aquellos que presentan varias opciones en el tamaño de la ración (ración grande vs ración pequeña).

Frecuencias de consumo

Respecto a las frecuencias de consumo especificadas para cada alimento existen también opciones abiertas para las cuales el entrevistado indica en número las veces que consume un determinado ítem del cuestionario por unidad de tiempo (día, semana, mes, año) y opciones cerradas para lo cual se indica las veces al días, veces a la semana, veces al años que se consumen cada uno de los ítems del cuestionario, así mismo existen opciones semi-abiertas (o semi-cerradas) donde el individuo indica el número de veces al día, semana, mes o año. Lo más habitual son las frecuencias cerradas en un número variable desde 6 a 9, y recogen la frecuencia de consumo desde “nunca o menos de una vez al mes” hasta “6 o más al día”.

Tiempo por el que pregunta el CFA

Lo más habitual es preguntar por el año precedente a la realización del propio CFA, de esta forma con independencia del momento del año en el cual se haga el cuestionario se registrará la dieta de todo el año, incluyendo aquellos alimentos de uso estacional. En ocasiones periodos más largos de tiempo (casos y controles) pueden ser deseables, incluso periodos más cortos (meses por ejemplo para evaluar el consumo de fólculo en periodos de embarazo), por tanto el periodo de tiempo dependerá de la finalidad con la cual se diseña el cuestionario.

Población objetivo

El tipo de población marcará otra de las características del CFA, su cumplimentación, que puede ser vía entrevistar entrenado, autocompletado para lo cual es necesario diseñar un manual de uso, y para el caso de los niños y de las personas mayores el CFA se pregunta de forma indirecta a padres/cuidadores.

Ventajas y limitaciones

La principal limitación del uso de CFAs es que estos han de ser validados en aquella población donde van a utilizarse. Las ventajas es que al ser cuestionarios estructurados permiten una fácil comprensión, cumplimentación y un rápido procesamiento y análisis de la información dietética, son de bajo coste y pueden ser auto-administrados.

2.5. Validación de los CFA: reproducibilidad y validez.

El CFA es el método de evaluación dietética mas ampliamente recomendado y utilizado en la mayoría de situaciones, esto se debe a sus facilidad de uso y de administración, su estructura permite que sea fácilmente codificable y analizable, en un solo contacto permite evaluar a dieta habitual a largo plazo en el pasado en los individuos y clasificarlos según su nivel de ingesta características que es la de máximo interés cuando se desea investigar las posibles relaciones entre la dieta y un determinado estado de salud.

Tras el desarrollo de un CFA hay que evaluar si el cuestionario mide dieta de forma fiable, es decir, de forma reproducible (precisa) y valida (exacta) en aquella población para la cual se ha desarrollado, es decir, ha de acometerse su validación.

La **reproducibilidad** de un CFA hace referencia a la capacidad que tiene dicho cuestionario de producir estimaciones similares cuando lo aplicamos a los mismos individuos en las mismas condiciones pero separado por un periodo de tiempo ya que no es posible reproducir exactamente las mismas condiciones. Este espacio temporal no deber ser muy corto ya que de esta forma las respuestas del cuestionario podrían parecerse en exceso (por ejemplo al recordar las respuestas del primer cuestionario, reproducibilidad artificial) o estar demasiado alejadas en el tiempo y dar lugar a cambios consistentes en los patrones dietéticos (Cade et al., 2004). Lo ideal es que el tiempo transcurrido entre las administraciones del cuestionario sea el mismo tiempo por el que pregunta el CFA (*time frame*), por lo general suele ser de un año. De igual forma dicho periodo de tiempo ha de abarcar la posible estacionalidad de los alimentos consumidos por la población a estudio. Resulta imposible reproducir las mismas circunstancias en relación al consumo de alimentos ya que la dieta de cada individuo varia diariamente, semanalmente, mensualmente, así esta variabilidad junto a los posibles errores aleatorios hacen disminuir la reproducibilidad del cuestionario.

La **validez** evalúa la capacidad que tiene el cuestionario para medir dieta real que se pretende medir, el problema es que no existe ningún método que nos mida esa dieta real con absoluta certeza, para así poder compararlo con la que mide el propio CFA. Por ello, los resultados de CFA se comparan con los resultados de otro método que también mide dieta

(denominado método de referencia o *gold standard*) y que se considera a efectos prácticos con un nivel de certeza superior. No existe un método que evalúe la dieta de forma exacta, pero existen métodos que se acercan más a la dieta verdadera que el CFA. Una baja reproducibilidad puede ser indicativo de que el cuestionario no proporcionará una medida válida de la ingesta dietética a largo plazo, es pues una condición tener buena reproducibilidad para tener buena validez. Por otra parte, una alta reproducibilidad no garantiza una alta validez ya que esta reproducibilidad puede ser el resultado de errores correlacionados (por ejemplo error sistemático intrapersona), o por ejemplo, pasar dos veces el CFA en un periodo muy corto que facilite las respuestas por memorización, etc.

Los métodos de evaluación dietética que se utilizan como referencia o *gold standard* para validar las estimaciones nutricionales obtenidas por el CFA son aquellas que evalúan la dieta reciente o actual: métodos directos y métodos bioquímicos (Vioque, 2006).

Métodos directos: recordatorios de 24 horas y registros de dieta

El CFA pregunta por el hábito de ingesta de alimentos en un periodo pasado que por lo general suele ser de un año, este método se basa en la memoria genérica (hábito) por el contrario los 24HR, aunque también están basados en la memoria, preguntan por la memoria reciente (“ayer”) y permiten cuantificar la dieta de forma más real, de este modo si se realizan varios 24HR en el mismo espacio de tiempo por el que pregunta el CFA obtendremos una estimación de dieta pero medida de forma más real (actual) a como lo hace el CFA. El principal inconveniente del 24HR es su tendencia a subestimar la dieta en comparación con los registros dietéticos, además puesto que descansa en la memoria al igual que el CFA los errores de medición de ambos métodos pueden correlacionarse y dar resultados de validez no reales. Los 24HR al realizarse mediante entrevistador no es necesario que el sujeto sepa leer y escribir, pueden realizarse de forma no anunciada y a distancia (teléfono), lo cual no da pie a que el sujeto entrevistado prepare las respuestas. Pese a que pueden alcanzar un nivel muy alto de precisión cuando se realizan por entrevistadores entrenados están sujetos, al igual que todos los métodos de evaluación dietética basados en la memoria, a *flat-slope-syndrom* o sobre-infra declaración de algunos alimentos.

De igual forma podemos utilizar varios FD en diferentes días de la semana y diferentes estaciones, para comparar con las estimaciones del CFA. Se ha señalado que el registro prospectivo de dieta puede inducir cambios en el patrón habitual de consumo de alimentos (Willett, 1998). Como ventaja al uso de 24HR como método de referencia, se compara un método prospectivo (registro) con uno retrospectivo (CFA), no presentando los problemas de memoria a los que están sujetos los 24HR con los CFA. Son muy precisos cuando se realizan

mediante el método de pesada de alimentos, no están sujetos a sobre-recuerdo o infra-recuerdo de alimentos.

El número de 24HR o FD necesario para estimar la ingesta de un individuo dependerá de los objetivos y recursos del estudio, del factor dietético que se mide, del grado de precisión deseado y de la propia variabilidad de la ingesta del nutriente (Pereira et al., 2010). Cuando los FD o 24HR se utilizan como método de comparación o *gold standard* para evaluar la validez del CFA se necesita que estos FD o 24HR tengan un grado de certeza elevado y una buena precisión, se ha sugerido que son necesarios entre 3 y 10 FD de un día o 24HR para hacer una estimación precisa de energía y macronutrientes, para aquellos nutrientes que varían en gran medida de un día para otro son necesarios más recordatorios (se ha sugerido 3-4 por estación), lo habitual en los estudios de validación es encontrar un número de FD o 24HR que oscila entre 3 y 7 recogidos en distintos días de la semana y distintas estaciones del año, cubriendo el marco temporal por que pregunta el CFA. El número real de estimaciones vendrán dados por los recursos del estudio ya que por razones de viabilidad no es posible realizar un elevado número de repeticiones en los estudios epidemiológicos (Willett, 1998), el número de estimaciones puntuales individuales varía según el estudio (Cade et al., 2002, 2004).

El amplio uso de los 24HR- como *gold standard* se debe a su facilidad de administración, frente a los registros de dieta los recordatorios no dan pie a que el sujeto prepare las respuestas como puede suceder al registrar la dieta de forma prospectiva. Los 24HR necesitan una menor implicación por parte del sujeto entrevistado y no presentan los problemas de aburrimiento a los que pueden dar lugar las recogida de varios registros dietéticos.

Métodos bioquímicos: biomarcadores de ingesta dietética

Biomarcadores de ingesta dietética: Un biomarcador de ingesta dietética (BM) es un parámetro biológico que se mide en sangre, por ejemplo vitamina C estimada en muestras sanguíneas, y que pueden ser indicadores de ingesta dietética. Si un indicador bioquímico proporciona un buen índice de la ingesta real este podría utilizarse como método de referencia para comparar con otras herramientas dietéticas y determinar así el grado en que estas estiman la verdadera ingesta (validez). A menudo se asume que los marcadores biológicos de un nutriente están estrechamente relacionados con la cantidad de ese nutriente presente en la dieta; sin embargo, hay un gran número de factores que pueden intervenir en esta relación como por ejemplo la biodisponibilidad del nutriente en el alimento o control homeostático de las fluctuaciones de ciertos nutrientes en el organismo humano. Su principal limitación es que son susceptibles a variación intraindividual, y otras fuentes de variabilidad biológica (absorción, metabolismo), biodisponibilidad. La principal ventaja al utilizarlos como *gold standard* es que

al no basarse en la memoria presentan distintas fuentes de error respecto a los métodos retrospectivos y prospectivos de medición de dieta. (Jenab et al., 2009).

Los BM mas comunes son el tejido adiposo (extracción de muestra subcutánea y análisis mediante HPLC de ácidos grasos), doble marcaje del agua (administración de agua marcada con deuterio y con isótopo O^{18} , su análisis en fluidos corporales excretados y cálculo por diferencia de la cantidad de CO_2 generado parámetro que se utiliza para el cálculo del gasto total de energía), excreción urinaria de sodio y potasio (estimación en muestras de orina de 24 horas), excreción urinaria de proteínas (estimación del nitrógeno en orina de 24 horas) (**Tabla2**).

De forma ideal el uso de niveles séricos de BM como método de referencia presentaría más ventajas respecto a los otros al ser menos invasivos, pudiéndose conservar la sangre durante un tiempo, además con una sola muestra pueden estimarse varios BM. No obstante no existen BM de ingesta dietética útiles para la totalidad de los nutrientes de la dieta. Su alto coste y su dificultad de procesado y almacenaje limitan su uso en estudios de validación (Jenab et al., 2009).

Por ello, en la actualidad se considera que la combinación de un método de referencia como pueden ser varios FD o 24HR en combinación con biomarcadores de ingesta dietética, serían los métodos de referencia ideales para determinar la validez de un CFA.

Tabla2. Principales biomarcadores de ingesta dietética y su uso en estudio epidemiológicos de validación

Nutriente	Procedimiento analítico	Tejido biológico	Validez	Referencia
Retinol	HPLC	Plasma	0.17	Vioque et al., 2007
β-caroteno	HPLC	Plasma	0.51	Yong et al., 1994
		Adiposo	0.20	Kardinaal et al., 1995
A-caroteno	HPLC	Plasma	0.58	Yong et al., 1994
β-criptoxantina	HPLC	Plasma	0.49	Yong et al., 1994
Luteína+Zeaxantina	HPLC	Plasma	0.31	Yong et al., 1994
Licopeno	HPLC	Plasma	0.50	Yong et al., 1994
		Plasma	0.35 (dieta)	Jacques et al., 1994
		Plasma	0.53 (+ suple.)	Jacques et al., 1994
Vitamina E	HPLC	Adiposo	0.24	Kardinaal et al., 1995
		Plasma	0.25 (dieta)	Jacques et al., 1993
Vitamina D	HPLC	Plasma	0.35 (+ suple.)	Jacques et al., 1993
		Plasma	0.38 (dieta)	Vioque et al., 2007
Vitamina C	HPLC	Plasma	0.43 (+suple.)	Loh et al., 1972
		Plasma	0.56	Selhub et al., 1993
Folacina	ensayo microbiológico	Suero	0.51	Bates et al., 1982
		Eritrocito	0.41	Joseph et al., 1994
Sodio	AAS	Orina de 24 horas	0.53	Joseph et al., 1994
Potasio	AAS	Orina de 24 horas	0.46 (baja ingesta)	Kushi et al., 1988
Colesterol	Ultracentrifugación	Sangre	0.08 (alta ingesta)	Shekelle et al., 1981
			0.69	Bingham et al., 1985
Nitrógeno	Kjeldhal	6 x Orina 24 horas		

AAS, espectrofotometría de absorción atómica; HPLC, Cromatografía líquida de alta resolución;

Modificado de Hunter "Biochemical Indicators of Dietary Intake (p228) en Willett, 1998, University Oxford Press"

2.6. Estadísticos para la evaluación de la reproducibilidad y validez.

Existen diversas pruebas estadísticas para estimar la reproducibilidad cuando comparamos las estimaciones del CFA consigo mismo, o cuando evaluamos su validez comparando sus estimaciones con las de otro método de evaluación dietética. Cuando el objetivo de estas pruebas estadísticas es comparar la ingesta absoluta entre ambos métodos de evaluación dietética suelen utilizarse estadísticos como la t de student o la U de Mann Whitney dependiendo si los datos son normales o no. Sin embargo cuando el objetivo del CFA es crear un ranking u ordenamiento de individuos según su nivel de ingesta dietética tenemos que evaluar la

capacidad del CFA para clasificar a las personas cuando comparamos sus estimaciones con las de otro método de evaluación dietética siendo útiles para esta finalidad:

- *Coefficientes de correlación (Pearson y Spearman)*: Existen diferentes técnicas estadísticas para evaluar la reproducibilidad y la validez de un CFA, la técnica estadística más utilizada para ello es el coeficiente de correlación que es un estadístico utilizado para medir la intensidad de la asociación lineal de dos variables cuantitativas. Se utiliza para comparar la ordenación de la ingesta dietética individual realizada por dos métodos de cuantificación o medición de ingesta dietética, ya que al ser función de la variabilidad interindividual y de la exactitud del propio método (validez) permite evaluar el ranking o clasificación de los individuos y diferenciar las dietas de los distintos individuos (Willett, 1998). El valor del coeficiente de correlación es independiente de cualquier unidad usada para medir las variables y se altera de forma importante ante la presencia de un valor extremo. Conviene realizar transformación de datos, especialmente si su distribución no es normal, para así cambiar la escala de medición y moderar el efecto de los valores extremos (transformación logarítmica); además si los datos no tiene distribución normal, una o ambas variables se pueden transformar (transformación logarítmica) o si no se calcularía un coeficiente de correlación no paramétrico (coeficiente de correlación de Spearman). El coeficiente de correlación de Pearson o Spearman se utiliza principalmente con 2 finalidades:
 - a. Para evaluar la reproducibilidad de CFA y mide la consistencia entre los datos derivados de dos mediciones distintas de un mismo CFA, obtenidos ambos en unas circunstancias lo más similares posibles (mismo individuo) pero en dos puntos diferentes de tiempo.
 - b. Para evaluar la validez del CFA a partir de la cual podemos deducir que si un método para evaluar la dieta clasifica a un individuo de una determinada como alto/medio/bajo consumidor de un determinado nutriente en qué medida también lo hace un segundo método de evaluación de dieta que actúa como *gold standard* al medir ese mismo parámetro en la misma persona.
- *Agreement*: Es una forma de analizar la concordancia de dos estimación realizadas por dos métodos de evaluación dietética. Clasifica a la población en quintiles según su ingesta de un determinado nutriente (u otra estimación) por los 2 métodos que evaluación la dieta, expresa el porcentaje de individuos que se clasifican en el mismo quintil o en el quintil adyacente cuando comparamos esos dos métodos (Deschamps et al., 2009) .

- *Coefficientes de correlación de-atenuados*: cuando la estimación de la validez de un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos se evalúa mediante la comparación con varios 24HR, la variabilidad del consumo de alimentos y por tanto la variabilidad de las estimaciones de los distintos 24HR puede afectar a los coeficientes de correlación cuando comparamos con el CFA. De esta forma la variabilidad en la ingesta de alimentos y nutrientes de un día a otro (variabilidad intraindividual) puede disminuir (atenuar) las estimaciones para la validez (coeficientes de correlación) por ello una corrección de los coeficientes de correlación teniendo en cuenta esta variabilidad intraindividual sería necesaria (Deschamps et al., 2009). El cálculo de los coeficientes de correlación de-atenuados se lleva a cabo a través de las varianzas de la variabilidad intraindividual (S^2_w) e interindividual (S^2_b) y del cálculo de un factor de corrección $\sqrt{1 + \{(S^2_w / S^2_b) / n\}}$ sobre el coeficiente de correlación calculado (Beaton et al., 1979).
- *Estadístico Kappa*: puede utilizarse para comparar categorías de ingestas dietéticas como frecuencias de consumo evaluadas por 2 métodos. No es apropiado para variables continuas, a menos que la intención sea categorizarlas en grupos ordenados (Masson et al., 2003).
- *Bland Altman*: Es un método gráfico que consiste en representar la diferencia entre las estimaciones de los dos métodos de evaluación dietética frente a sus medias, es una medida del grado de acuerdo entre dos métodos. En esa representación gráfica además se estiman 2 líneas horizontales correspondientes a la media y el valor 0, y los 2 límites de concordancia, que es el intervalo de las dos desviaciones estándar alrededor de la media de las diferencia e incluye al 95% de las diferencias observadas. Existe buena concordancia entre los dos métodos cuando el área entre los límites de concordancia es estrecho, cuando los puntos representados son cercanos a cero y se distribuyen de forma homogénea a lo largo del eje longitudinal (Sedgwick, 2013).
- *Coefficientes de correlación intraclase*: La obtención de este coeficiente permite evaluar la concordancia general entre las estimaciones del CFA y las estimaciones del método de referencia. Puede ser determinado como la proporción de la variabilidad total debida a la variabilidad intraindividual, partiendo del supuesto que la variabilidad total puede dividirse en tres componentes: a) la variabilidad debida a las diferencias entre los individuos. b) la variabilidad debida a las diferencias entre los dos métodos de evaluación dietética y c) una variabilidad (residual), inexplicable (aleatoria), asociada al error inherente a toda medición (Prieto et al., 1998).

2.7. Métodos de los residuos de Willett: ajuste por calorías.

La ingesta de la mayoría de los nutrientes se correlaciona de forma positiva con la ingesta energética total, ya sea porque contribuyen directamente a la ingesta de energía (grasa, hidratos de carbono, proteínas) o porque los individuos que consumen más energía (más alimentos) ingieren más de todos los nutrientes. A su vez, la ingesta dietética está determinada por el tamaño corporal, la actividad física y la eficiencia metabólica de los individuos, siendo estos parámetros los que más influyen en la variación de la ingesta energética entre individuos. Además una parte de la variación en el consumo total de energía es debido a un error de medición, independientemente del método de evaluación de la dieta utilizada. Por ello es conveniente obtener una medición de la ingesta nutricional independiente del consumo calórico total con la finalidad de:

1. Eliminar factor de confusión:

Si la ingesta energética se asocia con la enfermedad todos los nutrientes también tenderán a estar asociados en la misma dirección. Cuando esta ingesta energética no es la variable de interés principal las posibles asociaciones dieta-enfermedad pueden verse afectadas. Si se desea estudiar el efecto de un determinado nutriente la medición de este deberá realizarse de forma independiente de la ingesta energética.

2. Eliminación o disminución del efecto indeseable de la variabilidad intraindividual.

Si la ingesta energética no se asocia a la enfermedad, el tamaño corporal, la eficiencia energética y la actividad física no serán determinantes del riesgo de enfermedad. Por otro lado, estos tres factores influyen en la variación de ingesta de nutrientes entre los individuos y puesto que son determinantes de la ingesta energética un ajuste (el control de la variación) por esta última hace innecesario el ajuste por cada uno de estos tres factores para eliminar esa variación. Además, los errores de medición de nutrientes específicos tienden a estar correlacionados con los errores de la ingesta total de energía (se calculan a partir de los mismos alimentos) por ello el control de la variación en el consumo total de energía también reducirá los errores de medición de nutrientes específicos.

El método de los residuos de Willett explica la parte de la variación de la ingesta de nutrientes que no se correlaciona con la ingesta energética. De forma práctica la ingesta cruda de cada nutriente se ajusta a la ingesta calórica total de cada individuo para lo cual se estiman los residuos a partir de modelos de regresión en los que se usa el logaritmo de la ingesta del nutriente como variable dependiente y el logaritmo de la ingesta energética total como variable independiente (Willett, 1998; Willett et al., 1985). Los residuos resultantes se suelen añadir a la

ingesta media del nutriente para darle un significado mayor a las estimaciones ajustada por calorías.

2.8. Selección de estudios de validación de CFA

Son muchos los CFA desarrollados y validados en diferentes poblaciones a nivel internacional. De todos ellos destacan el CFA del estudio Nurses' Health Study desarrollado por Walter Willett en el Departamento de Salud Pública de la Universidad de Harvard y el CFA de Block et al. del estudio NHANES II.

El CFA de Willett fue desarrollado y validado en el año 1985 es un cuestionario semi-cuantitativo, cerrado y con 9 frecuencias de consumo (Willett et al., 1985). Su objetivo evaluar la ingesta dietética en las enfermeras norteamericanas y explorar la relación entre la ingesta dietética a lo largo del tiempo y dieta-enfermedad. Por otro lado el cuestionario de Block et al. se desarrolló y validó mediante los datos recogidos en el estudio NHANES II (Block et al., 1986).

Muchos de los CFA desarrollados se obtuvieron a partir de estos dos cuestionarios sufriendo diferentes modificaciones/adaptaciones por parte de aquellos investigadores para aplicarlos a distintas poblaciones en distintos estudios y con diferentes objetivos.

Selección de estudios de validación de cuestionarios de frecuencia de consumo de alimentos en España

En año 1993, Martín –Moreno y colaboradores desarrollaron y validaron un cuestionario de 118 ítems frente a 16 registros dietéticos recopilados en intervalos de 3 meses a lo largo de un año. El CFA se desarrolló desde 0 utilizando la metodología de 24HR para conseguir el listado final de alimentos. Su reproducibilidad y validez se evaluó en una población de mujeres con edad comprendida entre 18 y 74 años. Para evaluar la reproducibilidad entre las dos administraciones del CFA y la validez frente a los registros de dieta se utilizaron coeficientes de correlación de Pearson, coeficientes de atenuación y los nutrientes se ajustaron por calorías mediante el método de los residuos de Willett (Martín-Moreno et al., 1993)

En el año 2000, Fregapane y colaboradores validaron un CFA de 202 ítems, dicho cuestionario presentaba una ración de uso común o tamaño de ración (semi-cuantitativo), y abierto para que el individuo entrevistado indicara “tamaño de la ración”, “frecuencia” y “numero de veces”. Como *gold standard* se utilizaron 4 registros dietéticos. En esta ocasión el cuestionario se desarrolló a partir de datos locales y nacionales sobre consumo alimentario y datos cualitativos recogidos por CFA y registros de dieta en algunos estudiantes universitarios en

la fase de desarrollo del cuestionario. En este estudio solo se evaluó la validez en una muestra de 135 mujeres y 70 hombres con una edad media de 24.8 años, para ello se utilizaron los coeficientes de correlación de Spearman, el coeficiente de correlación intraclase y el test de Wilcoxon's (Fregapane et al., 2000).

En 2001, Shroeder y colaboradores validaron un cuestionario de 157 ítems y un recordatorio de 72 horas frente a 3 registro de dieta y biomarcadores de ingesta dietética medidos en sangre y orina. La población constaba de 44 individuos (30.7 años, 30.2 % hombres). La reproducibilidad del CFA se evaluó en un periodo de aproximadamente 6 semanas, y los registro de dieta se recogieron en 3 días consecutivos en la semana 4 y 5 desde la administración del primer cuestionario. Las muestras de sangre y orina (orina de 24 horas en tres días consecutivos) se recogieron en las semanas 1 y 2 desde el inicio del estudio de validación y estimaron nitrógeno urinario, y los niveles séricos de vitamina C, β -caroteno y glutatión peroxidasa. La reproducibilidad se evaluó mediante los coeficientes de correlación intraclase y los coeficientes de correlación de Pearson. La validez del CFA frente a los registros de dieta se evaluó mediante los coeficientes de correlación de Pearson, los coeficientes de correlación intraclase y el % de individuos clasificados en el mismo cuartil o cuartil adyacente. La validez del CFA también se evaluó frente a biomarcadores de ingesta dietética y nitrógeno urinario para ello se utilizaron coeficientes de correlación (Schröder et al., 2001)

Vioque y colaboradores evaluaron la validez de un cuestionario de 135 ítems frente a biomarcadores de ingesta dietética en una muestra de 252 hombres y 293 mujeres participantes en el Estudio EUREYE (Augood et al., 2006). El cuestionario fue desarrollado a partir de un cuestionario validado en población adulta que a su vez estaba basado en el cuestionario de las enfermeras norteamericanos (Willett 1985). Para la validación del cuestionario se estimaron los niveles séricos de algunos biomarcadores medidos en sangre y se comparaban con las estimaciones del CFA utilizando para ello los coeficientes de correlación de Pearson (Vioque et al., 2007).

En 2008, Rodríguez y colaboradores acometieron la validación de un cuestionario de 45 ítems con frecuencias de consumo semiabiertas. Dicho cuestionario se obtuvo a partir de datos previos sobre consumo alimentario en esa población. La validez se midió en una población de 71 individuos, para ello la reproducibilidad se evaluó en un marco temporal de 1 años, tiempo donde se recogieron 9 24HR en 3 periodos distintos a lo largo del año que actuaron como *gold standard*. Las comparaciones entre los métodos de evaluación dietética se llevaron a cabo mediante los coeficientes de correlación de Spearman (para los alimentos y nutrientes ajustado y sin ajustar por calorías) y los coeficiente de correlación intraclase (Rodríguez et al., 2008).

Aguirre-Jaime y colaboradores (2008) validaron un CFA en población canaria. El CFA de 135 ítems preguntaba por la dieta habitual a lo largo del año previo a la entrevista y se validó frente a 3 24HR recogidos en aproximadamente 2 meses procurando que el tiempo entre recordatorios no fueses de más de 7 días. Para evaluar la validez se compararon las estimaciones del CFA con la de los 24HR mediante coeficientes de correlación ajustados y sin ajustar por calorías (Aguirre-Jaime et al., 2008).

Rivas y colegas en el 2009 validaron un CFA de 24 ítems diseñado para evaluar el consumo de calcio a partir de datos previos recogidos con otro CFA en la misma población. En dicho CFA se preguntaba con que frecuencia (días, semana, mes, año) y en que cantidad consumían cada uno de los ítems del cuestionario. La validación se llevó a cabo comparando las estimaciones del cuestionario con las estimaciones de 3 24HR recogido a lo largo de 10 meses aproximadamente distribuidos en distintas estaciones del año. Las comparaciones entre los dos métodos se llevaron a cabo mediante los coeficientes de correlación de Spearman y gráficos de Bland-Altman (Rivas et al., 2009).

En el año 2009, de la Fuente-Arrillaga y colaboradores evaluaron la reproducibilidad del CFA utilizado en el estudio SUN (Seguimiento Universidad de Navarra). La reproducibilidad se evaluó comparación entre las estimaciones del cuestionario se realizó en 2 grupos: individuos cuyos CFA estaban separados menos de un año e individuos cuyos CFA estaban separados por un año o más. Los estadísticos para evaluar la reproducibilidad fueron los coeficientes de correlación de Pearson para los alimentos y nutrientes ajustados por calorías, y los coeficientes de correlación de-atenuados (Fuente-Arrillaga et al., 2009).

El CFA de 137 ítems de alimentos utilizado en el estudio PREDIMED (Prevención con Dieta MEDiterranea) se adaptó a partir del CFA de Martín-Moreno y colaboradores validado en 1993. La reproducibilidad se evaluó a lo largo de un año y se recogieron 12 FD por individuo, 3 FD en 4 puntos regulares a lo largo del año, que actuaron como método de referencia. Los estadísticos utilizados para evaluar la validez y la reproducibilidad fueron los coeficientes de correlación de Pearson para los alimentos y nutrientes ajustados por calorías y los coeficientes de correlación intraclase (Ferández-Ballart et al., 2010).

En el año 2012, Vázquez y colaboradores validaron un CFA en una población de 108 individuos con diagnóstico de hipercolesterolemia familiar (edad media de 43.5 años). El CFA preguntaba por la dieta habitual en el año previo a la realización de la entrevista, el CFA se pasó en 2 ocasiones separadas por un año. La media de las estimaciones de los dos CFA se comparó con FD (3 FD consecutivos cada 3 meses en 3 días consecutivos, uno de ellos de fin de semana) para evaluar la validez, se utilizaron coeficientes de correlación de Pearson (Vázquez et al., 2012).

En el año 2012 Gordillo y colaboradores desarrollaron un CFA adaptándolo a partir de otros cuestionarios previos, para evaluar la ingesta de licopeno en una población de 70 individuos pacientes hospitalarios. Se utilizó como método de referencia los niveles sérico de licopeno, la comparación entre las estimaciones de licopeno del cuestionario y los niveles séricos se llevó a cabo mediante los coeficientes de correlación de Pearson (Ramos et al., 2012).



Tabla3. Selección y resumen de estudios de validación en diferentes poblaciones españolas.

Autor/fecha	Frecuencia/ración/n ítems/entrevista	n/Sexo	Edad (años)	Objetivo	Gold Standard	Estadísticos	Reproducibilidad	Validez Rango
Martin-Moreno et al. / 1993	na/na/118/auto	147 M	18 a 74	Evaluar reproducibilidad y validez para usarlo en casos y controles	4 X 4DR	Pearson	0.51 (grasa saturada) - 0.88 (alcohol)	0.20 (vit. A) - 0.88 (alcohol)
Fregapane et al. / 2000	3abiertas/abierto/202/ auto	135M - 70H	18 a 61 - 24.8 (6.6)	Evaluar dieta completa	4 X DR (n=38)	Spearman		0.305 (PUFA) - 0.895 (Cloro)
Schroeder et al./2001	4/na/157/auto	14H - 30M	30.7 (10.4)	Evaluar la validez de CFA	BM, 3 x DR	Pearson	(n=29) 0.95 (energía) - 0.71 (% energía CH)	0.17 (grasa) - 0.61 (β- caroteno) (3xDR); 0.53 (vit. C) - 0.17 (β- caroteno) (BM)
Vioque et al. / 2007	9/semi-cuantitativo/135/entre vista	252H - 293M	72.8 (5.5)	Relación nutrientes estimados por CFA y niveles séricos según BMI, sexo, edad	BM	Pearson		0.10 (luteina+zeaxantina) - 0.36 (vit. C)
Trinidad-Rodríguez et al. / 2008	2 abiertas/cualitativo/45 /auto	37H - 31M	13 a 65	Hábitos alimentarios en población general	9 x 24HR	Spearman	0.490 (pescado) - 0.754 (vino) & 0.442 (vit d)- 0.764 (alcohol)	0.170 (otros alimentos) - 0.757 (vino) & 0.158 (retinol) - 0.721 (alcohol)
Aguirre-Jaime et. Al / 2008	11 /5 tamaños/ 138/entrevista	608M - 459H	19 a 30	Estimación de alimentos y nutrientes consumidos por la población	3 X 24HR	Pearson o Spearman		0.148 (café e infusiones) - 0.542 (verduras) & 0.173 (vit. B1) - (0.595 Vit. C)
Rivas et al. / 2009	Frecuencias abiertas/abierto/24/entrevista	91M	18 a 65	Hábitos alimentarios y densidad mineral ósea	3 x 24HR,	Spearman		0.467 (energía) - 0.014 (riboflavina)
de la Fuente-Arrillaga et. Al / 2009	9/ semi-cuantitativo/136/auto	115H - 211M	35.49 (13.21)	Estimar reproducibilidad del CFA		Pearson	0.29 (cereales) - 0.94 (grasa animal) & 0.19 (MUFA) - 0.85 (alcohol)	
Fernandez-Ballart et al. / 2010	9/semi-cuantitativo/137/ entrevista	73H - 85M	65.5 (7.4)	Estimar ingesta habitual de alimentos y nutrientes	12 x DR	Pearson	0.47 (legumbres) - 0.82 (bebidas alcohólicas) & 0.52 (AG n-3) - 0.77 (vitamina C)	0.29 (legumbres) - 0.70 (bebidas alcohólicas) & 0.24 (Vit. D) - 0.65 (Vit. C)
Vazquez et al. / 2012	5abiertas/ semi-cuantitativo/113/auto	63H- 66M	43.5 (16.5)	Energía y nutrientes. Hipercolesterolemia familiar	12 x DR	Pearson		mCFA vs DR 0.242 (alcohol) - 0.890 (MUFA)
Gordillo et al. / 2012	9/semi-cuantitativo/41/entrevista	27H - 43M	52.5 (17.2)	Estimar ingesta licopeno	BM: licopeno sérico	Spearman		0.359 (tomate añadido a pizza) - 0.11 (tomate añadido a arroz)

N/A datos no disponibles; M mujer; H hombre; MUFA acidos grasos monoinsaturados; PUFA acidos grasos polinsaturados; DR registros de dieta; 24HR recordatorios de 24 horas; BM biomarcadores de ingesta dietética.



3. JUSTIFICACIÓN

La descripción del papel de la dieta en el estado de salud es uno de los retos actuales de la epidemiología nutricional. Durante los últimos 30 años el desarrollo de la epidemiología de la nutrición ha ido aportando una metodología para evaluar la dieta en las diferentes poblaciones a nivel internacional. Desde sus inicios a finales de los años 80 hasta la actualidad, ha evolucionado constantemente junto a los avances tecnológicos permitiendo ahorrar tiempo y costes, y junto a las técnicas y métodos estadísticos mejorando los distintos análisis, métodos y pruebas estadísticas.

El reto de los investigadores es conseguir buenos instrumentos que midan de forma fiable la dieta para establecer relaciones dieta-enfermedad/salud. En este sentido, existe ya un gran número de CFA a nivel internacional para la evaluación de la dieta en distintas poblaciones, en distintas situaciones y con diferentes objetivos. Pero siguen siendo escasos los CFA destinados a evaluar la dieta completa habitual en diferentes grupos poblacionales de la cuenca mediterránea, especialmente en algunos grupos poblacionales de especial susceptibilidad como las mujeres embarazadas, niños y adultos jóvenes.

Por ello, cuando se planteó la realización de un estudio de Cohorte prospectivo como el proyecto INMA (Infancia y medio Ambiente) cuyo objetivo principal incluía el estudio de factores medioambientales incluida la dieta en la salud materno infantil, se planteó la necesidad de obtener un buen instrumento para medir la dieta ante la falta de buenos instrumentos para medir la dieta en embarazadas, y posteriormente en población infantil de corta edad. Por tanto, para evaluar la ingesta dietética en mujeres embarazadas y sus hijos a los 4-5 años de edad y lograr los objetivos del estudio INMA, se desarrollaron 2 CFAs, uno para embarazadas y otros para población infantil de 4-5 años. Según nuestro conocimiento en España no existían cuestionarios validados para estos dos grupos poblacionales.

Por otra parte, el estudio DiSA-UMH, es un estudio epidemiológico de cohorte con seguimiento cada 3 años que incluye una población de estudiantes universitarios de la universidad Miguel Hernández de Elche. El objetivo general del estudio es determinar el estado de nutrición y salud de la población universitaria y ver que factores influyen en el desarrollo de enfermedades relacionadas con los hábitos de vida (valorar los cambios en la dieta, la salud y la antropometría y explorar su relación con la aparición de enfermedades, prestando especial atención a manifestaciones tempranas de enfermedades crónicas), siendo el CFA una herramienta esencial para la consecución de los objetivos.

En España encontramos El estudio SUN (seguimiento Universidad de Navarra) es un estudio de cohorte con más de 19.000 universitarios graduados, una cohorte de similares características aunque de edad algo superior a la del estudio DiSA-UMH. En él se utiliza un CFA

extenso para evaluar su dieta y para el cual se evalúa la reproducibilidad (de la Fuente-Arrillaga et al., 2010).

En el año 2008 se desarrollo un CFA para evaluar la dieta en un estudio de seguimiento en una cohorte de Canarias (Cabrera de León et al., 2008) el estudio CDC-Canarias (prevalencia e incidencia de Cáncer, Diabetes y enfermedades Cardiovasculares). El CFA desarrollado en este estudio (FFQ-CDC) se validó en una población de estudiantes universitarios de edad comprendida entre 19 y 30 años (Aguirre-Jaime et al., 2008). A nuestro conocimiento es el único estudio de validación en población universitaria y según lo investigado no existen CFA desarrollados y validados para evaluar la dieta en adultos jóvenes de la cuenca mediterránea.



4. CONTEXTO

Por tanto, la motivación y justificación de esta Tesis surge por un lado de la necesidad de evaluar la dieta de forma válida y fiable en los estudios INMA y DiSA-UMH para alcanzar los objetivos que en ellos se plantearon, y por otro, por el escaso número de herramientas validadas para evaluar la dieta en poblaciones susceptibles como las mujeres embarazadas, niños de 4-5 años y adultos jóvenes en nuestro medio. Por ello, el estudio INMA y el estudio DiSA-UMH (sus características se detallan en el apartado Metodología General) han supuesto el marco perfecto para desarrollar y validar los tres CFA de esta tesis doctoral.





5. HIPÓTESIS

La hipótesis que nos hemos propuesto verificar en esta tesis doctoral guarda una estrecha relación con los objetivos planteados. Pretendemos verificar que los CFA desarrollados para evaluar la ingesta dietética en población de embarazadas, población infantil de 4-5 años y de adultos jóvenes presentan una aceptable reproducibilidad y validez y por lo tanto, son instrumentos adecuados para evaluar la ingesta de nutrientes y alimentos en estos grupos poblacionales.

Más específicamente las hipótesis a verificar son:

1. La reproducibilidad y validez frente a marcadores bioquímicos (retinol, α - y β -caroteno, luteína+zeaxantina, licopeno, β -criptoxantina, folato, vitamina B12, vitamina C y vitamina E) de un CFA 101 ítems para evaluar la ingesta dietética en una población de embarazadas es aceptable.
2. El CFA de 105 ítems diseñado para evaluar la ingesta dietética en niños de 4-5 años de edad es reproducible y presenta una aceptable validez cuando se compara con 24HR y niveles séricos de niveles séricos de vitamina E, luteína+zeaxantina, β -criptoxantina, licopeno, α - y β -caroteno, retinol y vitamina C.
3. La reproducibilidad y validez de un CFA de 84 ítems para evaluar la ingesta dietética en población adulta joven es aceptable comparando su validez con 24HR y niveles séricos de niveles séricos de vitamina E, luteína+zeaxantina, β -criptoxantina, licopeno, α - y β -caroteno, retinol y vitamina C.



6. OBJETIVOS

En consonancia con las hipótesis planteadas, el **objetivo general** de esta tesis doctoral ha consistido en evaluar la reproducibilidad y validez de varios CFA para evaluar la ingesta dietética de nutrientes y alimentos en mujeres embarazadas, en población infantil de 4-5 años de edad y en adultos jóvenes.

En correspondencia a las hipótesis planteadas los **objetivos específicos** de la tesis doctoral han sido:

En relación al CFA de 101 ítems para evaluar dieta en mujeres embarazadas:

1. Valorar la reproducibilidad del CFA tras dos mediciones realizadas en dos momentos del embarazo.
2. Evaluar la validez bioquímica del CFA comparando las estimaciones de ingesta dietética de vitaminas (retinol, α - y β -caroteno, luteína+zeaxantina, licopeno, β -criptoxantina, folato, vitamina B12, vitamina C y vitamina E) frente a los niveles plasmáticos de esas mismas vitaminas, teniendo en cuenta el consumo de suplementos vitamínicos que se suele dar durante el embarazo.

En relación al CFA de 105 ítems para evaluar la dieta en niños de 4 años:

3. Examinar reproducibilidad del CFA para estimar ingesta de nutrientes y alimentos en un periodo de 9 meses.
4. Evaluar la validez de las estimaciones obtenidas por el CFA usando como referencia las medias de las estimaciones dietéticas de tres 24HR dentro del periodo de 9 meses usado para reproducibilidad.
5. Evaluar la validez bioquímica del CFA comparando las estimaciones de ingesta de vitaminas (retinol, α - y β -caroteno, luteína+zeaxantina, licopeno, β -criptoxantina, folato, vitamina B12, vitamina C y vitamina E) frente a los niveles plasmáticos de esas mismas

En relación al CFA de 84 ítems para evaluar la dieta en adultos jóvenes

6. Evaluar la reproducibilidad del CFA para estimar ingesta de nutrientes y alimentos en población adulta joven.
7. Valorar la validez del CFA comparando las estimaciones de ingesta de nutrientes y alimentos con las estimaciones obtenidas por 24HR horas y los niveles séricos de varias vitaminas.



7. METODOLOGÍA GENERAL

Poblaciones de los estudios

7.1. Mujeres embarazadas del Estudio INMA-Valencia

Estudio INMA (INfancia y Medio Ambiente) es un estudio de cohorte multicéntrico y multipropósito desarrollado en 7 poblaciones españolas (Figura1). Su objetivo general es estudiar el papel de los contaminantes ambientales y de la dieta sobre la salud materno-infantil.

Figura1. Localización geográfica de las cohortes INMA en España



La población utilizada en esta tesis doctoral se centra en la cohorte INMA-Valencia, concretamente en dos puntos distintos de tiempo: mujeres embarazadas y sus hijos a los 4-5 años de edad.

Entre febrero de 2004 y junio de 2005 se llevó a cabo el reclutamiento de la población a estudios en dos áreas sanitarias de Valencia, aprovechando la visita en la semana 12 que las embarazadas hacen al Hospital de la Fe de Valencia para el programa de prevención poblacional de síndrome de Down y cribado de malformaciones congénitas. Comadronas y obstetras dieron información oral a las mujeres sobre el estudio y se le dio un paquete informativo solicitándoles su consentimiento informado para participar en el estudio. Las mujeres embarazadas para entrar en estudio debían cumplir unos criterios de inclusión: residente en el área de estudio, tener un mínimo de 16 años de edad, tener un embarazo único, realizar su primera visita prenatal en el hospital público o centro de salud del área, no haber seguido ningún programa de reproducción asistida, dar a luz en el hospital de referencia y no tener problemas de comunicación.

De las 1563 mujeres embarazadas elegibles, 840 mujeres aceptaron participar, de ellas 787 dieron a luz un recién nacido vivo entre mayo de 2004 y febrero de 2006. El análisis de los datos se basó en 740 mujeres que completaron el estudio de validación entre las semana 12 de gestación (semanas 10-13) y la semana 32 de gestación (semana 28 -32 de gestación).

Variables de estudio

El CFA de 101 ítems estaba basado en un CFA desarrollado a partir del cuestionario de Harvard (Willett et al., 1985) y que fue validado en población adulta valenciana usando como *gold standard* 4 registros dietéticos de una semana. Para el CFA de 101 ítems se añadieron ítems de alimentos para representar en mayor medida las fuentes de nutrientes relevantes durante el embarazo. El CFA se pasó al las participantes en el primer trimestre de embarazo (semana 12), incluyendo la ingesta dietética de alimentos y nutrientes desde la última menstruación hasta la semana 12 y de nuevo, en otra entrevista entre las semana 28-32, incluyendo la ingesta dietética desde la semana 12 a la semana 30 (Figura 2). En el CFA se especificaban tamaños de ración y medidas casera, y tenía 9 frecuencias de consumo que van desde “nunca o menos de una vez al mes” hasta “6 o mas al día”. Junto a la administración de ambos CFA se recogió información sobre el uso de suplementos dietéticos mediante un cuestionario específico que preguntaba sobre la fecha de inicio del consumo de suplementos, la fecha final, dosis y marca comercial (Anexo VI).

Para evaluar la validez del CFA de 101 ítems se recogió una muestra de sangre para analizar las concentraciones plasmáticas de BM (retinol, α -caroteno, β -caroteno, luteína+zeaxantina, licopeno, β -criptoxantina, folato, vitamina B12, vitamina C, vitamina E), a las mujeres embarazadas participantes en el estudio de validación (n= 740) se les dio instrucciones para que no tomaran frutas, verduras y/o zumos en el desayuno el día de la extracción. Las muestras se separaron por centrifugación y se congelaron a -80°C . Las muestras para analizar vitamina C se estabilizaron con ácido meta fosfórico, se protegieron de la luz y se refrigeraron a 4°C . Las muestras se enviaron a un laboratorio central para estimar los niveles séricos de colesterol (total, HDL, LDL), vitamina C, vitamina E, B12, ácido fólico y carotenoides. Las concentraciones séricas de folato y vitamina B12 se estimaron mediante radio-ensayo comercialmente disponible. (SimulTRAC-SNB ICN Pharmaceuticals, California, USA), los carotenoides y la vitamina E se analizaron mediante cromatografía líquida de alta resolución, la vitamina C se estimó mediante un ensayo basado oxidasa-ascorbato.

La composición nutricional de los alimentos se obtuvo mediante tablas de composición españolas (Palma et al., 2008) y se completaron con las tabla de composición de los alimentos del departamento norteamericano de agricultura (USDA, 2010) y otras fuentes sobre composición de los alimentos y tamaños de ración. Para estimar la ingesta de nutrientes primero se multiplicó el tamaño de ración especificado en el CFA por la frecuencia de consumo declarada para cada alimento del cuestionario obteniendo de esta forma los gramos al día, luego se multiplicó por la composición nutricional y dividimos el resultado por el tamaño de las raciones (Anexo IX). Con esto obtuvimos la ingesta de nutrientes para cada alimento, sumando la estimación para todos los alimentos del cuestionario obteníamos la ingesta media diaria de nutrientes para cada mujer. Mediante el cuestionario específico para suplementos se calculó la ingesta media diaria de vitamina C, vitamina B12 y folato, y se sumaron a las estimaciones de

nutrientes del CFA.

Además de la variables descritas se recogió en el primer trimestre de embarazo: factores sociodemográficos, obstetricios, clínicos y estilos de vida, y antecedentes de partos previos. En el segundo trimestre de embarazo: cuestionarios sobre estilos de vida.

7.2. Niños de 4 años del Estudio INMA-Valencia

Entre los años 2008 y 2011 se contactó con los padres o cuidadores de los niños nacidos de madres del estudio, de los 787 niños nacidos vivos, 590 padres de niños accedieron a participaron en el seguimiento a los 4 años de edad (visita de los 4-5 años), de ellos 169 participaron en el estudio de validación.

Variable de estudio

La dieta de los niños de 4 años se evaluó mediante un CFA de 105 ítems. El CFA se desarrolló siguiendo los mismos pasos que el CFA de 101 ítems. A los padres o cuidadores de los niños se les pregunto en 2 ocasiones a lo largo de un periodo de aproximadamente nueve 9 meses con que frecuencia sus hijos consumían cada uno de los ítems del cuestionario (Figura 2). También era un cuestionario semi-cuantitativo y se especificaron los tamaños de ración o medidas caderas y tenía 9 posibles respuestas sobre la frecuencia de consumo (Anexo VII).

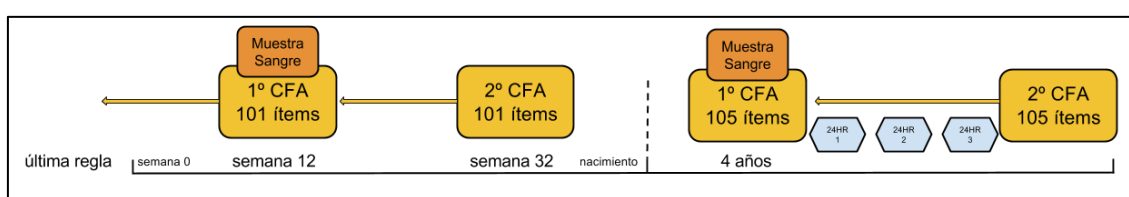
Para estimar la validez del CFA de 105 ítems en niños de 4 años se utilizaron dos métodos de referencia. Por un lado 3 24HR que respondían los padres o cuidadores acerca de la dieta de su hijos para un día concreto recogidos en días no consecutivos, distintos días de la semana y distinto meses (aproximadamente 1 recordatorio de 24 horas cada 3 meses) a lo largo de un periodo de aproximadamente 9 meses. Los alimentos recogidos en los 24HR se tradujeron a gramos/día y mediante una aplicación informática con datos de nutrientes por alimento basado en las tablas de composición de la USDA y de fuentes españolas se obtuvieron las ingestas de nutrientes al día para cada uno de los individuos. Por otro lado 105 de los 169 niños participantes en el estudio de validación donaron una muestra de sangre en ayunas para estimar los niveles séricos de varios biomarcadores de ingesta dietética (vitaminas C y E, licopeno y carotenoides) que sirvieron como segundo método de referencia para comparar los resultados de las ingestas estimadas por los CFA. Las muestras se separaron por centrifugación y se congelaron a -80°C. Las muestras para el análisis de vitamina C se estabilizaron con ácido metafosfórico y se protegieron de la luz, se refrigeraron a 4°C. Se enviaron al Hospital Puerta de Hierro para su análisis: se estimaron los niveles séricos de luteína+zaxantina, β -Crytoxantina, licopeno, a-caroteno y β -caroteno, retinol y vitamina E, las estimaciones se realizaron simultáneamente mediante cromatografía líquida ultra rápida. (Granado-Lorencio et al., 2010).

La vitamina C se analizó mediante cromatografía.

Las estimaciones de nutrientes a partir de los CFA se realizaron de la misma forma que se hizo para las estimaciones del CFA de 101 ítems en mujeres embarazadas. Para obtener las estimaciones de nutrientes a partir de los 24HR, éstos se analizaron mediante software comercial obteniendo las estimaciones de nutrientes de cada uno de los 24HR de cada individuo.

Además, en la visita de los 4-5 años se recogió información mediante cuestionarios administrados a los padres o cuidadores de los niños, sobre factores sociodemográficos y se tomaron medidas antropométricas.

Figura2. Esquema de validación de los CFA utilizados en el estudio INMA



7.3. Estudiantes universitarios del estudio DiSA- UMH

Estudio DiSA-UMH (“Dieta salud y antropometría en población universitaria) es un estudio epidemiológico de cohorte con seguimiento cada 3 años que incluye a 1204 participantes en España, en la universidad Miguel Hernández de Elche. El objetivo general del estudio es determinar el estado de nutrición y salud de la población universitaria y ver qué factores influyen en el desarrollo de enfermedades relacionadas con los hábitos de vida.

Los detalles del estudio se describen ampliamente en un artículo ya publicado (Navarrete-Muñoz et al., 2015). En resumen, entre los años 2006 y 2012 se llevó a cabo el reclutamiento de esta población en diferentes grados de ciencias de la salud de la universidad Miguel Hernández de Elche en el campus de San Joan d’Alacant donde se invitó a los participantes a unirse al estudio aprovechando las sesiones prácticas de estos grados, se les explicaba la finalidad del estudio y aquellos que aceptaban participar se les hacía firmar un consentimiento informado. La explotación de los datos para esta tesis se llevó a cabo en la fase inicial del estudio donde se planteó un estudio de validación para evaluar la reproducibilidad y validez de un CFA de 84 ítems. De los 1204 individuos, 320 fueron invitados inicialmente a participar en el estudio de validación, de ellos 169 individuos participaron en el mismo aportando 2 CFA de 84 ítems recogidos en dos momentos a lo largo de un año un mínimo de 3 24HR y una muestra de sangre en ayunas (solo disponible para 105 individuos). No hubieron diferencias estadísticamente significativas entre los individuos que participaron en validación y los que no participaron (Anexo II).

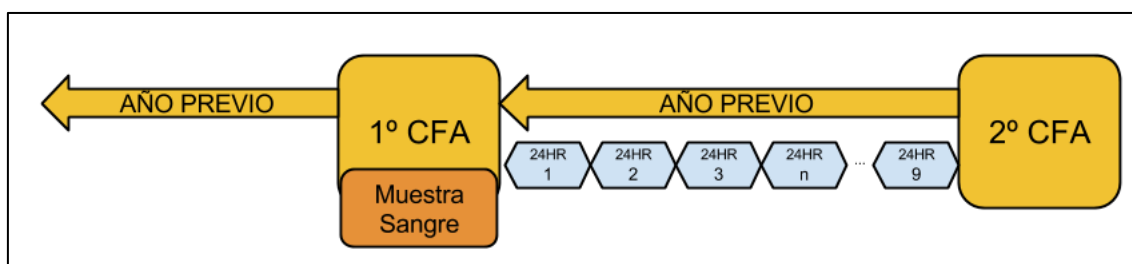
Variables del estudio

En el estudio DiSA-UMH las variables de estudio se recogieron mediante un cuestionario auto administrado para el cual de forma grupal se daban instrucciones de cumplimentación e incluía un módulo de Encuesta Dietética: Cuestionario de Frecuencia de Alimentos de 84 ítems, recordatorio de 24 horas. (Solo para los participantes en el estudio de validación), Mini cuestionario de frecuencia de alimentos de 25 ítems; módulo de Salud y Estilos de Vida: estado de salud auto-referido y antecedentes patológicos personales (crónica), actividad física, consumo de tabaco y alcohol, uso del etiquetado nutricional; módulo sociodemográfico; módulo de antropometría reportada: peso, talla, presión arterial sistólica, presión arterial diastólica. También se tomaron muestras de sangre y medidas antropométricas: muestras sanguíneas para determinar antioxidantes y otros nutrientes (Solo para los participantes en el estudio de validación, colesterol total, HDL, LDL, vitamina C, licopeno, vitamina E, carotenoides); modulo de antropometría medida: peso, talla, circunferencia abdomen/cadera, tensión arterial sistólica y diastólica, grasa corporal.

La ingesta dietética se estimó mediante un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos semi-cuantitativo de 84 ítems de alimentos y/o agrupaciones de alimentos, similar al utilizado por Willett en el estudio de las Enfermeras Norteamericanas (Willett et al., 1985). Este CFA fue adaptado y validado para utilizarlo en población adulta española (Vioque et al., 2007; Vioque and Gonzalez, 1991) posteriormente fue adaptado para evaluar la dieta en adultos jóvenes y que permitiera incluir la ingesta de energía y de los nutrientes de interés para los propósitos del estudio. La frecuencias de consumo para los ítems del cuestionario fueron “nunca o menos de una vez al mes”, “1-3 veces al mes”, “ 1 por semana”, “2-4 por semana”, “5-6 por semana”, “1 por día”, “2-3 por día”, “4-5 por día” y “ 6 o mas al día”. El cuestionario era semi-cuantitativo, el tamaño de la ración de los ítems fue establecido en gramos y/o mediante una ración estándar de uso común en alimentos españoles ej. “ vino tinto (1 vaso, 125cc) (Anexo VIII).

El CFA de 84 ítems se recogió en 2 puntos de tiempo separados por aproximadamente un año. Las preguntas sobre salud y estilos de vida así como sociodemográficas y medidas auto reportadas se recogieron coincidiendo con el primer CFA. La muestras de sangre y medidas antropométricas se tomaron en un día aparte de la cumplimentación de los cuestionarios iniciales.

Figura3. Esquema de validación del CFA de 84 ítems



A partir de la recogida del primer CFA y a lo largo de un año se contactó con los participantes vía telefónica no anunciada para realizarles recordatorios de 24 horas, no consecutivos, en diferentes días de la semana y distintas estaciones del años, estos recordatorios actuaron como método de referencia. En dicha entrevista telefónica se pidió a los individuos entrevistados que describieran de forma exhaustiva todos los alimentos ingeridos en el día anterior a la entrevista, pidiéndoles para ello que recordaran medidas caseras y tamaños de ración, ingredientes, preparaciones culinarias, marcas comerciales etc.... Para todos los individuos que participaron en el estudio de validación se recogió un mínimo de 3 recordatorios de 24 horas y un máximo de 9, siendo el número de recordatorios variable entre los individuos (tabla4).

Tabla4. Número de 24HR en el estudio DiSA-UMH

número individuos	número de recordatorios
14	3
20	4
38	5
53	6
27	7
13	8
4	9

Como método de referencia se también utilizaron niveles séricos de biomarcadores de ingesta dietética (luteína+zaxantina, β -Crytoxantina, licopeno, α -caroteno y β -caroteno, retinol y vitamina E) para los cual se tomaron muestras de sangre en ayunas a una submuestra dentro del estudio de validación. Las muestras de sangre se recogieron en contenedores con EDTA, se separaron por centrifugación y se congelaron a -84°C , posteriormente se enviaron a un laboratorio para su análisis (Hospital Puerta de Hierro, Madrid). Las muestras para analizar vitamina C se estabilizaron con ácido metafosfórico y se aislaron de la luz. Las muestras se analizaron mediante cromatografía líquida de alta resolución, la vitamina C se analizó por cromatografía. También se estimaron los niveles de colesterol total, HDL y LDL.

Para estimar la ingesta de alimentos a partir de las respuestas del CFA se transformo la frecuencia de consumo de alimentos en gramos por día para cada alimento del CFA. Se estimaron los consumos medios diarios de 18 grupos de alimentos y 30 nutrientes y energía para todos los individuos del estudio de validación. Teniendo en cuenta el tamaño de la ración y mediante tablas de composición nacionales y norteamericanas (Palma et al., 2008; USDA, 2010) se estimó la ingesta de nutrientes al día para cada alimento. Posteriormente sumando la ingesta de nutrientes de todos los alimentos consumidos se obtuvo la ingesta media diaria cruda para cada individuo participante (Anexo IX). Las estimaciones a partir de los 24HR se obtuvieron de forma similar a como se obtuvieron las estimaciones de los 24Hr en el estudio de validación del CFA de 105 ítems.

7.4 Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos empleados en la validación de los tres CFAs fueron similares. Los análisis estadísticos detallados a continuación fueron realizados mediante los programas informáticos SPSS (versión 21 para Windows) y R (versión 2.14.1 R Foundation for Statistical Computing, Madrid, Spain, <http://www.r-project.com>).

Para describir las ingestas de nutrientes y alimentos derivadas de los CFA, los 24HR y los niveles séricos de BM se utilizó las medias y desviación estándar. Todos los nutrientes se logaritizaron y ajustaron por calorías mediante el método de los residuos de Willett. Además los niveles séricos de BM para los carotenoides y vitamina E se ajustaron por colesterol utilizando el método de los residuos. Calculamos t de Student para compara las medias entre el CFA1 y el CFA2, también para comparar CFAav y 24HRav.

Para evaluar la reproducibilidad se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson entre las estimaciones del primer CFA (CFA1) y el segundo CFA (CFA2) para los nutrientes y grupos de alimentos logaritizados sin ajustar y ajustados por calorías. En el caso de la validación del CFA de 101 ítems (niño de 4 años) y del CFA de 84 ítems (estudiantes universitario) la validez del CFA se evaluó comparando las estimaciones medias de nutrientes del CFA1 y el CFA2 (CFAav) con las estimaciones medias de los 24HR (24HRav) para los nutrientes, para ello se logaritizaron todas las estimaciones y se ajustar por las calorías totales mediante el método de los residuos de Willett y se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson, adicionalmente en el estudio de validación del CFA de 101 ítems se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson de atenuados dada la alta variabilidad intraindividual en los recordatorios de 24 horas de los niños, para ello se sumo un factor $(\sqrt{1 + \{(S^2_w / S^2_b)/3\}})$, 24HR fueron 3 24HR) al coeficiente de correlación de Pearson calculado. En la fórmula S^2_w representa la variabilidad intrapersona (*within-person*) y S^2_b representa la variabilidad inter-

persona (*between-person*). También calculamos los coeficientes de correlación de Spearman aunque fueron prácticamente iguales que los de Pearson y no se muestran.

Para medir la validez también se compararon las estimaciones del CFA1 con la media de los niveles séricos de biomarcadores de ingesta dietética para vitamina C, vitamina E, α - y β -caroteno, luteína+zeaxantina, licopeno y β -criptoxantina, en el estudio de validación del CFA de 105 ítems además para folato y vitamina B12, para ello se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson.

Tabla5. Análisis estadísticos en los artículos realizados.

Artículo. Vioque, J., Navarrete-Muñoz, E.-M., Gimenez-Monzó, D. , García-de-la-Hera, M., Granado, F., Young, I.S., Ramón, R., Ballester, F., Murcia, M., Rebagliato, M., Iñiguez, C., INMA-Valencia Cohort Study. Reproducibility and validity of a food frequency questionnaire among pregnant women in a Mediterranean area. <i>Nutrition Journal</i> , 2013; 12, 26.	
Objetivo	Análisis estadísticos
Descripción de las variables para las estimaciones del CFA1av CFA2, CFAav, 24HEav, BM	Medias y desviaciones estándar
Comparación de medias, CFA1 vs CFA2, CFA1 vs BM	test t-Student y % Agreement
Evaluación de la reproducibilidad de nutrientes y grupos de alimentos (CFA1 vs CFA2)	Coefficiente de correlación de Pearson /r/. Ajuste por calorías método residuos Willett.
Evaluación de la validez de nutrientes (CFA1 vs BM)	Coefficiente de correlación de Pearson /r/. Ajuste por calorías y colesterol (BM para vitamina E y carotenoides) mediante el método de los residuos de Willett

Validación cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos de 105 ítems (niños INMA de 4 años). Reproducibility and validity of a Food Frequency Questionnaire to assess diet in children aged 4-5 years.	
Objetivo	Análisis estadísticos
Descripción de las variables para las estimaciones del CFA1av CFA2, CFAav, 24HRav, BM	Medias y desviaciones estándar
Comparación de medias, CFA1 vs CFA2, CFA1 vs BM	test t-Student y %Agreement
Evaluación de la reproducibilidad de nutrientes y grupos de alimentos (CFA1 vs CFA2)	Coefficiente de correlación de Pearson /r/. Ajuste por calorías método residuos Willett.
Evaluación de la validez de nutrientes (CFAav vs 24HR)	Coefficiente de correlación de Pearson /r/. Coeficientes de correlación deatenuados. Ajuste por calorías de los nutrientes mediante el método de los residuos de Willett
Evaluación de la validez de nutrientes (CFA1 vs BM)	Coefficiente de correlación de Pearson /r/. Ajuste por calorías y colesterol (BM para Vitamina E y carotenoides) mediante el método de los residuos de Willett

Validación cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos de 84 ítems (estudiantes universitarios). Reproducibility and validity of a semi-quantitative food frequency questionnaire in Mediterranean Spanish young adults	
Objetivo	Análisis estadísticos
Descripción de las variables para las estimaciones del CFA1av CFA2, CFAav, 24HRav, BM	Medias y desviaciones estándar
Comparación de medias, CFA1 vs CFA2, CFA1 vs BM	test t-Student y %Agreement
Evaluación de la reproducibilidad de nutrientes y grupos de alimentos (CFA1 vs CFA2)	coeficiente de correlación de Pearson /r/. Ajuste por calorías método residuos Willett.
Evaluación de la validez de nutrientes (CFAav vs 24HR)	Coeficiente de correlación de Pearson /r/. Ajuste por calorías de los nutrientes mediante el método de los residuos de Willett
Evaluación de la validez de nutrientes (CFA1 vs BM)	Coeficiente de correlación de Pearson /r/. Ajuste por calorías y colesterol (BM para Vitamina E y carotenoides) mediante el método de los residuos de Willett





Tabla3. Selección y resumen de estudios de validación en diferentes poblaciones españolas.

Autor/fecha	Frecuencia/ración/n ítems/entrevista	n/Sexo	Edad (años)	Objetivo	Gold Standard	Estadísticos	Reproducibilidad	Validez Rango
Martin-Moreno et al. / 1993	na/na/118/auto	147 M	18 a 74	Evaluar reproducibilidad y validez para usarlo en casos y controles	4 X 4DR	Pearson	0.51 (grasa saturada) - 0.88 (alcohol)	0.20 (vit. A) - 0.88 (alcohol)
Fregapane et al. / 2000	3abiertas/abierto/202/auto	135M - 70H	18 a 61 - 24.8 (6.6)	Evaluar dieta completa	4 X DR (n=38)	Spearman		0.305 (PUFA) - 0.895 (Cloro)
Schroeder et al./2001	4/na/157/auto	14H - 30M	30.7 (10.4)	Evaluar la validez de CFA	BM, 3 x DR	Pearson	(n=29) 0.95 (energía) - 0.71 (% energía CH)	0.17 (grasa) - 0.61 (β- caroteno) (3xDR); 0.53 (vit. C) - 0.17 (β- caroteno) (BM)
Vioque et al. / 2007	9/semi-cuantitativo/135/entrevista	252H - 293M	72.8 (5.5)	Relación nutrientes estimados por CFA y niveles séricos según BMI, sexo, edad	BM	Pearson		0.10 (luteína+zeaxantina) - 0.36 (vit. C)
Trinidad-Rodríguez et al. / 2008	2 abiertas/cualitativo/45/auto	37H - 31M	13 a 65	Hábitos alimentarios en población general	9 x 24HR	Spearman	0.490 (pescado) - 0.754 (vino) & 0.442 (vit d)- 0.764 (alcohol)	0.170 (otros alimentos) - 0.757 (vino) & 0.158 (retinol) - 0.721 (alcohol)
Aguirre-Jaime et. Al / 2008	11 /5 tamaños/ 138/entrevista	608M - 459H	19 a 30	Estimación de alimentos y nutrientes consumidos por la población	3 X 24HR	Pearson o Spearman		0.148 (café e infusiones) - 0.542 (verduras) & 0.173 (vit. B1) - (0.595 Vit. C)
Rivas et al. / 2009	Frecuencias abiertas/abierto/24/entrevista	91M	18 a 65	Hábitos alimentarios y densidad mineral ósea	3 x 24HR,	Spearman		0.467 (energía) - 0.014 (riboflavina)
de la Fuente-Arriaga et. Al / 2009	9/ semi-cuantitativo/136/auto	115H - 211M	35.49 (13.21)	Estimar reproducibilidad del CFA		Pearson	0.29 (cereales) - 0.94 (grasa animal) & 0.19 (MUFA) - 0.85 (alcohol)	
Fernandez-Ballart et al. / 2010	9/semi-cuantitativo/137/ entrevista	73H - 85M	65.5 (7.4)	Estimar ingesta habitual de alimentos y nutrientes	12 x DR	Pearson	0.47 (legumbres) - 0.82 (bebidas alcohólicas) & 0.52 (AG n-3) - 0.77 (vitamina C)	0.29 (legumbres) - 0.70 (bebidas alcohólicas) & 0.24 (Vit. D) - 0.65 (Vit. C)
Vazquez et al. / 2012	5abiertas/ semi-cuantitativo/113/auto	63H- 66M	43.5 (16.5)	Energía y nutrientes. Hipercolesterolemia familiar	12 x DR	Pearson		mCFA vs DR 0.242 (alcohol) - 0.890 (MUFA)
Gordillo et al. / 2012	9/semi-cuantitativo/41/entrevista	27H - 43M	52.5 (17.2)	Estimar ingesta licopeno	BM: licopeno sérico	Spearman		0.359 (tomate añadido a pizza) - 0.11 (tomate añadido a arroz)

N/A datos no disponibles; M mujer; H hombre; MUFA ácidos grasos moninsaturados; PUFA ácidos grasos polinsaturados; DR registros de dieta; 24HR recordatorios de 24 horas; BM biomarcadores de ingesta dietética.

RESEARCH

Open Access

Reproducibility and validity of a food frequency questionnaire among pregnant women in a Mediterranean area

Jesús Vioque^{1,2*}, Eva-María Navarrete-Muñoz^{1,2}, Daniel Gimenez-Monzó^{1,2}, Manuela García-de-la-Hera^{1,2}, Fernando Granado³, Ian S Young⁴, Rosa Ramón^{2,5}, Ferran Ballester^{2,6,7}, Mario Murcia^{2,6}, Marisa Rebagliato^{2,6}, Carmen Iñiguez^{2,6} and INMA-Valencia Cohort Study

Abstract

Background: Studies exploring the role of diet during pregnancy are still scarce, in part due to the complexity of measuring diet and to the lack of valid instruments. The aim of this study was to examine the reproducibility and validity (against biochemical biomarkers) of a semi-quantitative food frequency questionnaire (FFQ) in pregnant women.

Methods: Participants were 740 pregnant women from a population-based birth cohort study in Valencia (INMA Study). We compared nutrient and food intakes from FFQs estimated for two periods of pregnancy (reproducibility), and compared energy-adjusted intake of several carotenoids, folate, vitamin B12, vitamin C and α -tocopherol of the FFQ in the first trimester with their concentration in blood specimens (validity).

Results: Significant correlations for reproducibility were found for major food groups and nutrients but not for lycopene ($r=0.06$); the average correlation coefficients for daily intake were 0.51 for food groups and 0.61 for nutrients. For validity, statistically significant correlations were observed for vitamin C (0.18), α -carotene (0.32), β -carotene (0.22), lutein-zeaxanthin (0.29) and β -cryptoxanthin (0.26); non-significant correlations were observed for retinol, lycopene, α -tocopherol, vitamin B12 and folate ($r\leq 0.12$). When dietary supplement use was considered, correlations were substantially improved for folate (0.53) and to a lesser extent for vitamin B12 (0.12) and vitamin C (0.20).

Conclusion: This study supports that the FFQ has a good reproducibility for nutrient and food intake, and can provide a valid estimate of several important nutrients during pregnancy.

Keywords: Diet, Nutrient intake, Food frequency questionnaire, Pregnancy, Validity

Introduction

Nutrition during pregnancy plays an important role in the well-being of the mother and fetus, and may further influence the health of the children later in life [1,2]. The ability to assess the role of a complex exposure such as maternal diet during pregnancy requires valid instruments.

Food records and 24-h dietary recalls may provide accurate information on diet although they are expensive to administer and analyze in epidemiological studies. Furthermore, food records require a high level of cooperation

and literacy and several days would be required to evaluate the long-term intake of foods and nutrients which makes them less feasible [3]. At present, food frequency questionnaires (FFQ) are the preferred dietary assessment method in most epidemiological studies mainly due to their low cost and ease of administration and, therefore, they have been validated in many different populations [3,4]. However, FFQ have been less often validated to assess diet during pregnancy, a period when many dietary changes occur and the use of dietary supplements is common [5]. The most frequent reference methods to validate FFQ have been food records and 24-h recalls [6] although they have been used less frequently in pregnant women. Thus, biomarkers for nutrient intake may be an alternative reference method for the validation of some nutrient

* Correspondence: vioque@umh.es

¹Departamento de Salud Pública, Universidad Miguel Hernández, Ctra. Nacional 332 s/n 03550, Campus San Juan de Alicante, Spain

²CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Barcelona, Spain
Full list of author information is available at the end of the article



intakes since their measurement errors are independent from those of FFQ [7,8].

In this study, as part of the on-going research of the INMA Project, the aim of which was to investigate the role of environmental pollutants in air, water and diet during pregnancy and early childhood in relation to child growth and development [9,10] we evaluated the reproducibility of a semi-quantitative FFQ for assessing usual dietary intake during pregnancy; we also examined the validity for the assessment of the usual intake of several nutrients during early pregnancy by comparing dietary intakes estimated by the FFQ with blood levels of these nutrients.

Methods

Study population

Participants were 740 healthy pregnant women from a mother and child prospective cohort study in Valencia, one of the cohorts of the INMA Project started in Spain in 2003 [9,10]. Details of the recruitment and follow-up have been described previously [11,12]. Briefly, pregnant women from a well-defined geographic area, attending the first prenatal visit at the hospital, were recruited before week 13 of gestation. Of the 840 women initially enrolled in the study between February 2004 and June 2005, 787 (93.7%) gave birth to a singleton live infant between May 2004 and February 2006. The final analysis was based on 740 (88.0%) women who completed the FFQ at weeks 12 (weeks 10–13 of gestation) and 32 of pregnancy (weeks 28–32 of gestation), and provided blood samples for the validation study. All subjects gave informed consent. The study protocol was approved by the Hospital Ethics Committee.

Covariates

Information on sociodemographic factors, parental anthropometric measures, maternal smoking, and newborn-related variables was obtained from a questionnaire administered in the first and third trimesters of pregnancy (approximately weeks 12 and 32) and from maternal and neonatal medical records. The socioeconomic status of pregnant women was defined in 3 occupational categories according to the Spanish adaptation of the British classification system. Social class I included managerial and senior technical staff and freelance professionals; class II included intermediate occupations and managers in commerce; class III included skilled nonmanual workers; class IV included skilled and partly skilled manual workers; and class V included unskilled manual workers. We used 3 categories (I+II, upper; III, middle; IV+V, lower) in our analysis [13]. Pre-pregnancy body mass index (BMI) was calculated by dividing the self-reported weight before pregnancy in kg by the square of the height in meters. Gestational weight gain was defined and categorized

according to the Institute of Medicine guidelines (a weight gain of 12.5–18 kg was low for a pre-pregnancy BMI < 19.8, a gain of 11.5–16 kg was normal for a BMI of 19.8–26.0, and a gain of 7–11.5 was high for a BMI > 26.0–29.0) [14]. Smoking in pregnancy was defined as never, first trimester only and entire pregnancy. Alcohol (g/d) intake was assessed in the FFQ with specific items for wine, beer, and liquors, together with standard servings for all the items. We collected detailed information on supplement use by including questions to identify the date of first use, time using it, frequency (times/week), dose and brand names of supplements which allowed us to estimate the daily nutrient intake of supplements for each period of pregnancy.

Dietary assessment: semiquantitative food frequency questionnaire

We used a semi-quantitative FFQ of 101 food items to assess the usual daily intake of foods and nutrients (available at: <http://bibliodieta.umh.es/files/2011/07/CFA101.pdf>). The FFQ was a modified version from a previous FFQ based on the Harvard questionnaire [15], which we developed and validated using four 1-week dietary records in an adult population in Valencia. The validity correlation coefficients (adjusted for energy intake) ranged from 0.27 for folate intake to 0.67 for calcium intake (average 0.47), and the reproducibility correlation coefficients ranged from 0.30 for carotene intake to 0.65 for calcium intake (average 0.40) [16,17]; this is a similar range to other established diet questionnaires [3,4]. For the dietary assessment of pregnant women in the INMA cohort study, we added additional food items in the FFQ in order to capture the major sources of the most relevant nutrients, including specific carotenoids.

Participants in the study were asked twice during pregnancy how often, on average, they had consumed each food item over two periods of several months. The first period covered the time from the last menstruation to the first prenatal visit that occurred between the 10–13 weeks of pregnancy; the second period was the time between the first visit and the second one between weeks 28–32 of gestation. Serving sizes were specified for each food item in the FFQ. The questionnaire had nine possible responses, ranging from 'never or less than once per month' to 'six or more per day'. Additionally, we asked whether study participants followed special diets.

Nutrient values were primarily obtained from the food composition tables of the US Department of Agriculture publications as well as other published sources for Spanish foods and portion sizes [18,19]. In order to obtain average daily nutrient intakes from diet for each individual, we multiplied the frequency of use for each food by the nutrient composition of the portion/serving size specified on the FFQ and added the results across all foods.

For those nutrients often used in supplements during pregnancy such as folate, vitamin C and vitamin B12, the total daily nutrient intake was estimated by adding the average daily intake from supplements and the usual daily nutrient intake from the FFQ. In order to convert folic acid intake from supplements to dietary folate, we used the equivalence of 1 mcg of folate in the diet equals to 0.6 mcg of folic acid from supplements [20]. We estimated the mean daily consumption for 17 foods and food groups by grouping the intake of specific foods in the FFQ (Table 1).

Biomarkers

Nonfasting blood samples were obtained from each participant during the first visit between weeks 10-13th of pregnancy and analysed in a central laboratory (Queen's University, Belfast). All participants were instructed by the interviewers not to consume fruits, vegetables or juice for breakfast on the day of the blood test. A thorough protocol was designed to collect, transport and measure the blood samples for vitamin C, E, B12, folate and carotenoids. Blood samples were separated by centrifugation and stored at -80°C. The blood samples for vitamin C determination were collected at clinical examination under subdued light, wrapped in tin foil, stabilized with meta-phosphoric acid and placed in insulated dry containers at 4°C to exclude light and, therefore, avoid vitamin C degradation. Blood samples packed in dry ice were shipped to the central laboratory by dedicated couriers. Plasma cholesterol was measured to adjust carotenoid concentrations. Folate and vitamin B12 concentrations in serum were measured using a

commercially available radioassay (SimulTRAC-SNB ICN Pharmaceuticals, California, USA). Serum carotenoids were measured by HPLC with diode array detection as described by Craft [21]. Lutein+zeaxanthin plasma concentrations were combined as information for these nutrients is combined in the main food composition tables. Serum concentrations of α -tocopherol were measured by high-performance liquid chromatography (HPLC) with UV detection at 292 nm [21]. Plasma vitamin C was measured using an ascorbate oxidase-based assay as described by Vuillemier & Keck [22]. The inter-assay CV were <10.0% and intra-assay CV <5.0% for all species. The assays were standardized against the appropriate National Institute of Standards and Technology standard reference materials.

Statistical analysis

Data analyses were performed with the STATA statistical software package (Stata[®] release 9, 2005). We calculated means and standard deviations for total nutrient intakes and food consumption from the FFQ, and for biomarkers. We used paired Student's test for means comparison of the individual daily nutrient intakes and food consumption reported in the two periods.

All nutrient and food group intakes were log-transformed prior to analysis to improve their normality. Energy-adjusted intakes were computed using the residual method, where each nutrient is regressed on total calories, and the population mean was then added back to the calculated residuals [15]. Since most carotenoids are transported in plasma lipoproteins, plasma concentrations of carotenoids and vitamin E were also adjusted per plasma cholesterol concentrations using the residual method.

Table 1 Definition of food groups

Food groups	Foods
Dairy Products (11)	whole milk; semi-skimmed milk; skimmed or low fat milk; condensed milk; full cream; whole and low fat yogurt; whole and low-fat cheese; custard, cream caramel, pudding; ice-cream
white meat (3)	Chicken or turkey with; and without skin; game (duck, quail, rabbit)
Red meat (4)	Beef, pork or lamb; liver; offal; hamburger
Processed meat (4)	ham, salami and others; sausages; pate; bacon
Lean fish (2)	hake, sole, gilthead and similar white fish type; assorted or mixed fried fish
Fatty fish (5)	swordfish, bonito, and fresh tuna; small oily fish (mackerel, sardine; anchovy); canned tuna; canned sardine or mackerel; dry or smoked fish.
Seafood (4)	clams, mussels; squid, octopus; shellfish (crabs, shrimps, lobster); surimi and other fish-based food products
Fruits (10)	oranges; orange juice; bananas; apples or pears; peaches, nectarines, or apricots; watermelon or melon; grapes; prunes or plums; kiwis; olives
Vegetables (12)	spinach; cabbage, cauliflower or broccoli; lettuce or endive; tomatoes; onions; carrots or squash; green beans; eggplant, zucchini, or cucumber; green, red, or yellow peppers; artichokes; asparagus; and garlic
Cereals and Pasta (4)	Breakfast cereals; corn; rice; pasta
Bread (2)	white and whole breads
Sweets and sugar (7)	biscuits; cookies; baked goods; added sugar; marmalade, honey; chocolate; chocolate/cocoa powder
Vegetable Fat (4)	Olive oil; sunflower, corn oils; margarine; mayonnaise

To assess the reproducibility of the FFQ, we estimated Pearson correlations to compare the individual energy-adjusted dietary intakes of nutrients and foods reported from the first and second interviews. Pearson correlations were also used to evaluate the validity of the FFQ by comparing individual energy-adjusted dietary intakes from the first FFQ and their respective plasma concentrations of the nutrients vitamin C, E, B12, folate and carotenoids (α -carotene, β -carotene, lutein + zeaxanthin, lycopene and β -cryptoxanthin). Spearman correlation coefficients were also estimated although the results were very similar to those observed for parametric correlations. Therefore, only Pearson correlations are presented. Correlation coefficients were also estimated taking into consideration supplement use and according other variables such as season of the year.

Results

Table 2 presents the main characteristics of the 740 pregnant women: 45.4% of women were under 30 years of age, 88.0% were born in Spain, 28.9% were overweight or obese before pregnancy, and the mean gestational age was 39.5 weeks. A large proportion of women (23%) smoked during all pregnancy. Supplement use of folic acid and vitamins C and B12 during pregnancy was reported by 94.9%, 55.8% and 87.2% of women respectively.

Reproducibility

Mean daily intakes of nutrients and food groups based on the FFQs are presented in Table 3. In general, intakes of energy and most of nutrients were slightly lower in the second period of pregnancy ($P < 0.05$), however some carotenoids (eg., lycopene 13.5% more), vitamin D and calcium showed higher intakes in the second period. The Pearson correlation coefficients for nutrients estimated by the two FFQ are also presented in Table 3. Highly significant correlations were observed for most nutrients, ranging from $r = 0.14$ for lycopene to $r = 0.70$ for iodine. The average of correlation coefficients was 0.51. When the analysis was based on energy adjusted nutrient intakes, the magnitude of correlation coefficients was reduced for most nutrients although they were all statistically significant except for lycopene.

Regarding food group intake, the mean intake for eight food groups estimated by the second FFQ was significantly lower than by the first FFQ (red meat, processed meat, seafood, nuts, legumes, cereals and pasta, bread, potatoes and vegetable fat) whereas the consumption of dairy products and fruits was significantly higher (Table 3). The correlation coefficients of food groups between the two FFQ were in general lower than those observed for nutrients, ranging from $r = 0.17$ for nuts to $r = 0.61$ for vegetables. The average correlation of absolute food group intakes between the two FFQ was

Table 2 Characteristics of participant pregnant women of the Inma-Valencia study, 2004–2006

Characteristics	Subjects (%)
Maternal age (in years)	
≤ 29	336 (45)
30-34	285 (39)
≥ 35	119 (16)
Educational level	
≤ Primary School	249 (34)
Secondary School	314 (42)
University	177 (24)
Country of origin	
Spain	651 (88)
Other countries	89 (12)
Socioeconomic status categories	
I-II, upper	118 (16)
III, middle	178 (24)
IV+V, lower	444 (60)
Pre-pregnancy body mass index (in kg/m ²)	
< 25	526 (71)
25.0-29.9	139 (19)
≥ 30	75 (10)
Smoking during pregnancy	
No	439 (59)
First trimester only	128 (17)
All pregnancy	173 (24)
Alcohol intake	
None	518 (70)
0-1 g/d	146 (20)
> 1 g/d	76 (10)
Gestational weight gain (missing=13)	
Normal	261 (36)
Low	179 (25)
High	287 (39)
Parity	
0	407 (55)
≥ 1	333 (45)
Medical problems in previous pregnancies (missing n=6)	
Yes	150 (20)
Use of supplement containing (any time in pregnancy):	
Folic acid (missing=32)	675 (95)
Vitamin C	413 (56)
Vitamin B12	645 (87)

(N=740).

Table 3 Mean daily nutrient and food intakes and Pearson correlation coefficients among pregnant women of the INMA-Valencia Study, 2004–2006

	FFQ1 ^a	FFQ2 ^a	<i>P</i> ^b	Pearson coefficient correlations between FFQ1 and FFQ2		Percent of agreement ^e
	Mean (SD)	Mean (SD)		Unadjusted ^c	Adjusted ^d	
Nutrients (units/day)						
Energy (kcal)	2304 (587)	2212 (633)	<0.001	0.58		75.4
Protein (g)	102 (25)	99 (27)	<0.001	0.53	0.49	75.8
Total carbohydrates (g)	261 (81)	253 (86)	0.005	0.57	0.36	73.8
Dietary fiber (g)	24 (8)	22 (8)	<0.001	0.48	0.43	68.8
Cholesterol (mg)	340 (109)	332 (113)	0.070	0.48	0.35	72.0
Total fat (g)	99 (29)	93 (31)	<0.001	0.50	0.35	74.2
SFA (g)	31 (11)	30 (11)	0.026	0.51	0.38	72.7
MUFA (g)	46 (14)	43 (14)	<0.001	0.46	0.35	69.6
PUFA (g)	15 (6)	14 (7)	0.001	0.49	0.35	73.0
Omega 3 (g)	1.6 (0.5)	1.5 (0.5)	<0.001	0.53	0.50	71.9
Omega 6 (g)	13 (6)	12 (6)	0.001	0.49	0.35	73.0
Retinol (μg)	812 (819)	844 (781)	0.335	0.51	0.53	76.2
α-carotene (μg)	536 (468)	532 (525)	0.859	0.50	0.51	71.6
β-carotene (μg)	4499 (2438)	4553 (2665)	0.583	0.55	0.56	72.7
Lutein+Zeaxanthin (μg)	3157 (2455)	3091 (2381)	0.453	0.59	0.59	75.7
Lycopene (μg)	4410 (2727)	5004 (3763)	<0.001	0.14	0.06*	57.7
β-Cryptoxanthin (μg)	360 (253)	362 (263)	0.851	0.38	0.36	67.0
Vitamin B6 (mg)	2.1 (0.7)	2.1 (0.8)	0.684	0.53	0.50	73.4
Folate (μg)	305 (99)	297 (106)	0.034	0.52	0.48	71.5
Vitamin B12 (μg)	9.9 (5.7)	9.7 (5.5)	0.335	0.46	0.43	70.8
Vitamin C (mg)	144 (83)	143 (86)	0.720	0.45	0.44	71.7
Vitamin D (μg)	3.1 (1.9)	3.3 (2.1)	0.009	0.55	0.52	71.5
Vitamin E (mg)	11.4 (4.1)	10.8 (4.5)	0.001	0.45	0.37	70.1
Calcium (mg)	1289 (429)	1320 (455)	0.060	0.51	0.49	71.4
Iron (mg)	21 (6)	20 (6)	<0.001	0.53	0.40	75.0
Magnesium (mg)	387 (105)	383 (107)	0.215	0.69	0.57	72.7
Sodium (mg)	3411 (996)	3171 (1043)	<0.001	0.49	0.33	72.8
Zinc (mg)	28 (7)	26 (7)	<0.001	0.52	0.40	74.1
Iodine ^f (μg)	222 (88)	226 (84)	0.151	0.70	0.72	80.5
Food groups (g/day)						
Dairy Products	468 (245)	520 (262)	<0.001	0.55	0.44	72.8
Eggs	20 (10)	21 (11)	0.288	0.39	0.36	96.2
White meat	33 (18)	32 (23)	0.129	0.38	0.37	78.4
Red meat	60 (32)	54 (29)	<0.001	0.40	0.36	68.4
Processed meat	42 (33)	39 (33)	0.034	0.36	0.33	66.8
Lean fish	25 (20)	25 (20)	0.264	0.36	0.36	70.9
Fatty fish	28 (23)	28 (24)	0.857	0.41	0.41	68.6
Seafood	11 (11)	10 (9)	<0.001	0.43	0.40	70.8
Fruits	293 (204)	320 (217)	0.004	0.41	0.38	59.3
Vegetables	216 (121)	213 (126)	0.554	0.61	0.62	59.5
Nuts	6 (11)	5 (7)	0.003	0.23	0.17	79.1

Table 3 Mean daily nutrient and food intakes and Pearson correlation coefficients among pregnant women of the INMA-Valencia Study, 2004–2006 (Continued)

Legumes	31 (25)	28 (23)	0.005	0.39	0.38	93.0
Cereals and Pasta	119 (51)	114 (49)	0.015	0.48	0.43	71.5
Bread	103 (72)	86 (65)	<0.001	0.38	0.35	64.3
Potatoes	60 (38)	55 (37)	0.001	0.39	0.33	66.9
Sweets and sugar	53 (44)	54 (48)	0.438	0.44	0.37	69.5
Vegetable fat	24 (14)	22 (14)	<0.001	0.30	0.30	64.3

^a FFQ1 administered between weeks 10–13th and FFQ2 between weeks 28–32nd of gestation; ^b P-value from paired *t*-test; ^c Nutrient crude intakes were log-transformed; ^d Adjusted for total energy intake; ^e Overall percentage categorized in the same or an adjacent quintile; ^f Iodine intake from diet and use of iodized salt; ^g *P*>0.05, all other coefficients, *P*<0.01; SFA, Saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, Polyunsaturated fatty acids. (n=740).

r=0.39. As for nutrients, the energy-adjusted correlations for food groups were slightly lower than unadjusted correlations although all of them were statistically significant (except for nuts).

According to classification into quintiles of nutrient intakes as estimated by the two FFQ, between 57.7% (lycopene) and 80.5% (iodine) of women were classified in the same or adjacent quintile (Table 2). Regarding the intake of food groups, between 59.3% (fruits) and 96.2% (eggs) of women were in good agreement, i.e., classified in the same or adjacent quintiles by both FFQ (energy adjusted intakes).

Validity

Table 4 shows the mean daily intake for ten nutrients and fruits and vegetables, and the correlation coefficients between the first FFQ and plasma concentration (relative validity). The correlation coefficients based on energy-adjusted nutrient intakes and cholesterol-adjusted plasma concentrations were slightly higher than the unadjusted data. The lowest coefficients were observed for lycopene (*r*=0.04), retinol (*r*= 0.05) and vitamin E (*r*=0.05) and the highest for β-carotene (*r*=0.32). The average correlation coefficient for energy-adjusted nutrients was *r*=0.16. When correlation analyses were performed for

Table 4 Mean daily nutrient and food intakes by the ffq at week 12th and nutrient plasma concentrations and pearson correlation coefficients in pregnant women of the Inma-Valencia study, 2004–2006

Nutrients and foods	FFQ1	Plasma concentration	Pearson coefficient correlations between FFQ1 and plasma concentrations		Agreement (%) ^c	
			Mean	Mean (SD)		<i>r</i> ^a
Retinol (μmol/l)	812	1.78 (0.54)		0.02	0.05	52.3
α-carotene (μmol/l)	536	0.15 (0.14)		0.31**	0.32**	61.9
β-carotene (μmol/l)	4499	0.40 (0.30)		0.21**	0.22**	58.8
Lutein + Zeaxanthin (μmol/l)	3157	0.32 (0.13)		0.26**	0.29**	60.1
Lycopene (μmol/l)	4410	0.72 (0.62)		0.05	0.04	52.3
β-cryptoxanthin (μmol/l)	360	0.22 (0.15)		0.26**	0.26**	62.3
Folate (mmol/dl)	305	80 (211)		0.06	0.12**	51.1
Diet + supplements (n=708) ^d	1616			0.53**	0.53**	72.0
Vitamin B12 (pmol/l)	9.9	322 (121)		0.08*	0.08*	55.3
Diet + supplements (n=740) ^d	12.0			0.11**	0.12**	55.0
Vitamin C (μmol/l)	144	50 (22)		0.16**	0.18**	57.4
Diet + supplements (n=520) ^d	157			0.18**	0.20**	58.3
Vitamin E (μmol/l)	11.4	33.2 (7.4)		0.01	0.05	52.6
Fruits and vegetables (g/day), mean (SD) vs	508 (260)			0.25**	0.28**	61.7
Carotenoids (μmol/l) ^e		1.09 (0.56)				

^a Nutrient intakes were log-transformed; ^b Adjusted for total energy intake and plasma carotenoids and vitamin E adjusted for total cholesterol; ^c Overall proportion categorized in the same or an adjacent quintile based on energy-adjusted intakes; ^d Total nutrient intake from diet and supplements. Folic acid from supplements were converted to dietary folate (0.6 μg from supplements = 1 μg from diet); plasma concentration of vitamin C was available for 520 women; ^e Carotenoid in plasma included α-carotene, β-carotene, Lutein+Zeaxanthin, β-Cryptoxanthin; ^g *P*<0.05; ^h *P*<0.01.

total nutrient intakes of folic acid, vitamin B12 and C (i.e., based on the intake from diet and supplements), correlation coefficients improved substantially, particularly for folate, from 0.12 to 0.53 (Table 3). The correlation coefficient between fruit and vegetable intake and plasma concentration of carotenoids (lycopene not included) was $r=0.28$.

We explored if validity increased by comparing nutrient plasma concentrations with the average of the two administrations of the FFQ at weeks 12 and 32. Correlations substantially improved for lycopene (from $r=0.04$ to $r=0.20$) and slightly for α -carotene, β -carotene and β -cryptoxanthin, but not so for others the nutrients. We also explored if the season of the year had influence on correlations. Lycopene correlations for samples taken in spring ($n=259$) and summer ($n=208$) were significantly higher than the other two seasons or the overall, $r=0.22$ and $r=0.23$ respectively. For retinol, we also observed a better correlation in winter ($n=130$, $r=0.26$).

Discussion

The results of this study indicate that the FFQ is a reasonably good method for dietary assessment among pregnant women in Spain. The FFQ showed a good degree of reproducibility for most of the foods and nutrient intakes, and an acceptable relative validity for some nutrients of special interest during pregnancy. This validation study was undertaken because a new FFQ has been developed for assessment of the dietary intakes of pregnant women in the INMA-Project, a prospective cohort study of pregnant women and their offspring [9,10]. On the other hand, this is the first study ever done to validate a FFQ among pregnant women in Spain with a sample size large enough to detect as statistically significant even small correlation coefficients which may be considered as minimally valid ($r>0.20$).

The correlation coefficients for most of the nutrients and food groups were comparable with those observed in other validation studies of FFQ among pregnant women and other populations [3,5]. Reproducibility was assessed by comparing the results from the FFQ at two different periods in pregnancy while validity was explored by comparing the nutrient intakes from FFQ and biomarker concentrations of several nutrients in plasma that are potentially important for perinatal research and that are sensitive to dietary intake (carotenoids, folate, vitamin B12 and C, E and retinol). Despite the use of biomarkers as a reference methods may have some limitations since they do not provide a quantitative measure of dietary intake but rather a qualitative indicator and may be more related to recent intake while FFQ to long-term exposure, plasma concentration for some nutrients are sensitive and acceptable indicators of intakes. Therefore, their use for FFQ validation is considered appropriate since the two

methods of assessing diet have different sources of error that are unlikely to be correlated with each other [7,8].

Overall, our FFQ has shown good reproducibility and therefore, it may be considered a reliable dietary assessment method among pregnant women of the INMA Project in Spain. Few studies have been published presenting data on the reproducibility of their FFQs in pregnant women [23-27]. In our study, the average of correlation coefficients between the first and second administration of the FFQ was 0.51 for the intakes of the 29 nutrients considered. Similar results were observed in a study with low-income pregnant women, except for a stronger vitamin A correlation [27]. In a Finnish study, the average of correlation coefficients for all nutrients considered was 0.66, higher than the 0.51 in our study [26]. In a Portuguese study, the estimated average of coefficients for 15 nutrients was also high (0.62), although the interval of the FFQ administration in this study was short, two weeks in the third trimester of pregnancy [24]. In a recently published study with pregnant women in Malaysia [23], the average of correlation coefficients for nutrients and foods was very high 0.87, which may be related in part to the short time period of administration between FFQ1 and FFQ2 (10 weeks) and to a more stable diet in the third trimester of pregnancy in that country. We applied a 20-week interval which made answer memorization more unlikely, thus avoiding an artificially increased reproducibility. However, a long interval could also be a concern since diet in pregnant women may not be as stable as among non-pregnant women and reproducibility may be compromised by real dietary changes. Although some studies have reported higher nutrient intakes with the second FFQ administration [26,27], other studies have shown no evidence of major changes in diet during pregnancy [24]. We observed slightly higher intakes for many foods and nutrients during the first period (but not for lycopene, fruits and dairy products), which may support the idea that some changes in diet did occur. Therefore, we explored whether reproducibility correlations were modified by categories of variables such as self-reported changes in diet (no/yes), age, body mass index, country of origin and self-reported vomiting during pregnancy (no/yes); however, correlations remained practically unchanged (data not shown). Despite potential changes in diet during pregnancy, the FFQ showed a satisfactory level of reproducibility for most foods and nutrients, particularly for those more frequently eaten. As far as we know, only two studies have previously explored reproducibility of food groups by FFQ among pregnant women [23,26]. Although foods were not grouped in the same way in our study, the average of the correlation coefficients were very similar to those observed in the Finnish Study while slightly lower than those reported in other non-pregnant populations [5].

Regarding the relative validity of the FFQ as assessed by biomarkers, poor correlations were found between dietary intake and plasma concentrations of retinol and α -tocopherol ($r=0.05$). A low validity has been also found in other studies with pregnant women [28-31] as well as non-pregnant population [4,32]. The retinol concentrations in plasma is highly regulated by liver stores over a wide range of dietary intakes that can be found mainly in subjects with either severely depleted or highly saturated liver stores [32]. Concerning the poor correlation for vitamin E, it has been suggested that plasma concentration may not be a good marker for usual nutrient intake among pregnant women and that other tissues (e.g., adipose tissue) may better represent usual vitamin E intake [3]. Nevertheless the lack of validity for retinol and vitamin E deserves attention when using this FFQ in the study of diet disease relationships.

The correlation coefficient for lycopene was lower than the observed for other carotene. It has been suggested that in order to increase validity for the assessment of long-term intake, one approach would be to use the average of repeated administrations of a dietary questionnaire [33]. Correlations for lycopene were substantially improved when plasma concentration was compared with the average of the two administrations of the FFQ. Correlation coefficients for α -carotene, β -carotene and β -cryptoxanthin were slightly improved when we used the average of the two FFQ, but not so for the others nutrients (data not shown). Poor correlations could be also related to when blood samples and FFQ were collected since the availability of foods with high content of carotenoids may differ substantially according to the season of the year. When the analysis was performed according to the season of the year, lycopene correlations for samples taken in spring and summer were significantly higher than the other two seasons or the overall. For retinol, we observed a better correlation in winter. Thus, validity of the FFQ may be even higher than shown in Table 4 as correlations were improved when time frame and season between nutrient intakes and plasma concentrations were matched more properly in the analysis.

Despite the fact that some correlations were low, our results support that the FFQ may be valid to estimate of long-term intakes and acceptably classify women according to their intakes for relevant nutrients. In fact, correlations in this study were slightly higher than those found in a previous study we performed using a similar FFQ in an elderly population [17] and in agreement with other studies in pregnant as well as non-pregnant populations [3-5].

On the other hand, the correlation coefficients were substantially improved for folate (from $r=0.12$ to $r=0.53$) and to lesser extent for vitamin B12 (from $r=0.08$ to $r=0.12$) and vitamin C (from $r=0.18$ to $r=0.20$) when dietary supplement use was considered. In Spain, the

contribution of vitamin B12 from supplements to the total intake of this vitamin is probably low although it may be included in some folic acid and multivitamin supplements, and therefore may influence the total dietary intake of this vitamin in some periods of pregnancy [34,35].

Other methods of dietary assessment such as food diaries or 24 h recalls are commonly used as a reference in validation studies of FFQ [6], and this may be a limitation of this study. However, the use of these methods was problematic and unfeasible in our study because of the large sample size and the considerable proportion of women with low educational level and with a country of origin different from Spain.

Therefore, we only explored relative validity by comparing nutrient intakes with their respective concentrations in plasma. Nutrient levels in plasma may be influenced not only by dietary intake but also by external factors such as the food matrix, the food preparation and by host factors such as gender, smoking status and BMI; however, when we stratified the analysis for some of these variables, correlations did not change and showed acceptable degree of validity still.

In conclusion, our findings show that reproducibility and validity of the FFQ assessed in this study using biological markers were acceptable and comparable with the results of earlier studies. We conclude that our FFQ is a good method for assessing intake of several relevant nutrients during pregnancy.

Competing interests

The authors declare that there are no conflicts of interest.

Authors' contributions

All the authors contributed to the preparation of the paper and read and approved the final manuscript. J.V. wrote the manuscript and designed the study. J.V., E.M. N-M., D. G-M., M. G-H., F.G., I.S.Y., R.R., F.B., M.M., M.R., C.I., made substantial contributions to acquisition of data, analysis and interpretation of data, and drafting and revising critically the manuscript. I.S.Y. contributed to nutrient determinations in blood samples. All authors reviewed the final version of the manuscript.

Authors' informations

Members of the INMA Valencia Cohort Study: Jesús Vioque, Eva-María Navarrete-Muñoz, Daniel Gimenez-Monzó, Manuela García de la Hera, Sandra González Palacios, Marisa Rebagliato, Ferran Ballester, Mario Murcia, Carmen Iñiguez, Rosa Ramón, Ana Esplugues, Clara Rodríguez-Bernal, Alfredo Marco, Sabrina Llop, Marisa Estarlich, Amparo Cases.

Acknowledgements

Supported by grants from Instituto de Salud Carlos III (Red INMA G03/176 and CB06/02/0041), the Spanish Ministry of Health and Fondo Europeo de Desarrollo Regional FEDER (FIS 03/1615, FIS 04/1509, FIS 04/1436, FIS 05/1079, FIS 06/1213, FIS06/0867, 07/0314; 11/01007), Ministerio Educación y Ciencia (SAF2002-03508), Conselleria de Sanitat - Generalitat Valenciana (ACOMP/2010/115; 084/2010).

We would like to appreciate the English revision made by Mr. Jonathan Whitehead and the support provided by Prof. Ian Young Laboratory with nutrient determinations in blood samples at the Queen's University, Belfast.

Author details

¹Departamento de Salud Pública, Universidad Miguel Hernández, Ctra. Nacional 332 s/n 03550, Campus San Juan de Alicante, Spain. ²CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Barcelona, Spain. ³Unidad de Vitaminas, Servicio de Bioquímica Clínica Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda Edificio Laboratorios (Peine 7), Planta 1ª c/Maestro Rodrigo, Madrid 2 28222, Spain. ⁴Centre for Public Health, School of Medicine, Dentistry and Biomedical Sciences, Queen's University Belfast, Belfast, UK. ⁵Dirección General de Salud Pública, Consejería de Sanidad, Avda Catalunya 21, Valencia 46020, Spain. ⁶Centro Superior de Investigación en Salud Pública (CSISP), Consejería de Sanidad, Avda Catalunya 21, Valencia 46020, Spain. ⁷University of Valencia, Valencia, Spain.

Received: 22 October 2012 Accepted: 14 February 2013
Published: 19 February 2013

References

- Godfrey K, Barker D: Fetal programming and adult health. *Public Health Nutr* 2001, **4**:611–624.
- Harding JE: The nutritional basis of the fetal origins of adult disease. *Int J Epidemiol* 2001, **30**:15–23.
- Willett W: *Nutritional Epidemiology*. 2nd edition. New York: Oxford University Press; 1998.
- Henríquez-Sánchez P, Sánchez-Villegas A, Doreste-Alonso J, Ortiz-Andrellucchi A, Pfrimer K, Serra-Majem L: Dietary assessment methods for micronutrient intake: a systematic review on vitamins. *Br J Nutr* 2009, **102** (Suppl 1):S10–37.
- Ortiz-Andrellucchi A, Doreste-Alonso J, Henríquez-Sánchez P, Cetin I, Serra-Majem L: Dietary assessment methods for micronutrient intake in pregnant women: a systematic review. *Br J Nutr* 2009, **102** (Suppl 1):S64–86.
- Cade J, Thompson R, Burley V, Warm D: Development, validation and utilisation of food-frequency questionnaires - a review. *Public Health Nutr* 2002, **5**:567–587.
- Hunter D: Biochemical indicators of dietary intake. In *Nutritional Epidemiology*. 2nd edition. Edited by Willet W. New York: Oxford University Press; 1998:174–243.
- Bingham S: Biomarkers in nutritional epidemiology. *Public Health Nutr* 2002, **5**:821–827.
- Ribas-Fitó N, Ramón R, Ballester F, Grimalt J, Marco A, Olea N, Posada M, Rebagliato M, Tardón A, Torrent M, Vioque J, Vrijheid M, Sunyer J: INMA Project. Cohort profile: the INMA-Infancia y medio ambiente-(environment and childhood) Project. *Int J Epidemiol* 2012, **41**:930–940.
- Ramón R, Ballester F, Iñiguez C, Rebagliato M, Murcia M, Esplagues A, Marco A, García de la Hera M, Vioque J: Vegetable but not fruit intake during pregnancy is associated with newborn anthropometric measures. *J Nutr* 2009, **139**:561–567.
- Rodríguez-Bernal CL, Rebagliato M, Iñiguez C, Vioque J, Navarrete-Muñoz EM, Murcia M, Boluvar F, Marco A, Ballester F: Diet quality in early pregnancy and its effects on fetal growth outcomes: the infancia y medio ambiente (childhood and environment) mother and child cohort study in Spain. *Am J Clin Nutr* 2010, **91**:1659–1666.
- Domingo-Salvany A, Regidor E, Alonso J, Alvarez-Dardet C: Proposal for a social class measure. Working group of the Spanish society of epidemiology and the Spanish society of family and community medicine. *Aten Primaria* 2000, **25**:350–363.
- Committee to Reexamine IOM Pregnancy Weight Guidelines IOM, National Research Council: *Weight gain during pregnancy: reexamining the guidelines*. Washington: National Academy Press; 2009.
- Willett W, Sampson L, Stampfer M, Rosner B, Bain C, Witschi J, Hennekens C, Speizer F: Reproducibility and validity of a semiquantitative food frequency questionnaire. *Am J Epidemiol* 1985, **122**:51–65.
- Vioque J, Gonzalez L: Validity of a food frequency questionnaire (preliminary results). *Eur J Cancer Prev* 1991, **1**:19–20.
- Vioque J, Weinbrenner T, Asensio L, Castelló A, Young I, Fletcher A: Plasma concentrations of carotenoids and vitamin C are better correlated with dietary intake in normal weight than overweight and obese elderly subjects. *Br J Nutr* 2007, **97**:977–986.
- U.S. Department of Agriculture: *Agricultural Research Service, USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 25*. Accessed Feb 2013: http://www.ars.usda.gov/Main/site_main.htm?modecode=12-35-45-00.
- Palma I, Farran P, Cervera P: *Tablas de composición de Alimentos por medidas caseras de consumo habitual en España*. Mc Graw Hill Interamericana: CESNID. Madrid; 2008.
- Eichholzer M, Tönz O, Zimmermann R: Folic acid: a public-health challenge. *Lancet* 2006, **367**:1352–1361.
- Craft NE: Carotenoid reversed-phase high-performance liquid chromatography methods: reference compendium. *Methods Enzymol* 1992, **213**:185–205.
- Vuilleumier J, Keck E: Fluorometric assay of vitamin C in biological materials using a centrifugal analyser with fluorescence attachment. *J Micronutrient Anal* 1989, **5**:25–34.
- Loy SL, Marhazlina M, Nor AY, Hamid JJ: Development, validity and reproducibility of a food frequency questionnaire in pregnancy for the Universiti Sains Malaysia birth cohort study. *Malays J Nutr* 2011, **17**:1–18.
- Pinto E, Severo M, Correia S, dos Santos Silva I, Lopes C, Barros H: Validity and reproducibility of a semi-quantitative food frequency questionnaire for use among Portuguese pregnant women. *Matern Child Nutr* 2010, **6**:105–119.
- Baer H, Blum R, Rockett H, Leppert J, Gardner J, Saitor C, Colditz G: Use of a food frequency questionnaire in American Indian and Caucasian pregnant women: a validation study. *BMC Public Health* 2005, **5**:135.
- Erkkola M, Karppinen M, Javanainen J, Räsänen L, Knip M, Vintanen S: Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire for pregnant Finnish women. *Am J Epidemiol* 2001, **154**:466–476.
- Saitor CJ, Gardner J, Willett WC: A comparison of food frequency and diet recall methods in studies of nutrient intake of low-income pregnant women. *J Am Diet Assoc* 1989, **89**:1786–1794.
- Brantsaeter AL, Haugen M, Hagve TA, Alesnes L, Rasmussen SE, Julshamn K, Alexander J, Meltzer HM: Self-reported dietary supplement use is confirmed by biological markers in the Norwegian mother and child cohort study (MoBa). *Ann Nutr Metab* 2007, **51**:146–154.
- Brantsaeter A, Haugen M, Alexander J, Meltzer H: Validity of a new food frequency questionnaire for pregnant women in the Norwegian mother and child cohort study (MoBa). *Matern Child Nutr* 2008, **4**:28–43.
- Mikkelsen T, Osler M, Olsen S: Validity of protein, retinol, folic acid and n-3 fatty acid intakes estimated from the food-frequency questionnaire used in the Danish National Birth Cohort. *Public Health Nutr* 2006, **9**:771–778.
- Scaife AR, McNeill G, Campbell DM, Martindale S, Devereux G, Seaton A: Maternal intake of antioxidant vitamins in pregnancy in relation to maternal and fetal plasma levels at delivery. *Br J Nutr* 2006, **95**:771–778.
- Willett WC, Stampfer MJ, Underwood BA, Speizer FE, Rosner B, Hennekens CH: Validation of a dietary questionnaire with plasma carotenoid and alpha-tocopherol levels. *Am J Clin Nutr* 1983, **38**:631–639.
- Willett WC: Foreword. The validity of dietary assessment methods for use in epidemiologic studies. *Br J Nutr* 2009, **102** (Suppl 1):S1–S2.
- Navarrete-Muñoz EM, Giménez Monzó D, García de la Hera M, Climent MD, Rebagliato M, Murcia M, Iñiguez C, Ballester F, Ramón R, Vioque J: Folic acid intake from diet and supplements in a population of pregnant women in Valencia, Spain. *Med Clin (Barc)* 2010, **135**:637–643.
- Pastor-Valero M, Navarrete-Muñoz EM, Rebagliato M, Iñiguez C, Murcia M, Marco A, Ballester F, Vioque J: Periconceptional folic acid supplementation and anthropometric measures at birth in a cohort of pregnant women in Valencia, Spain. *Br J Nutr* 2011, **105**:1352–1360.

doi:10.1186/1475-2891-12-26

Cite this article as: Vioque et al.: Reproducibility and validity of a food frequency questionnaire among pregnant women in a Mediterranean area. *Nutrition Journal* 2013 **12**:26.

8.2 Resultados artículo 2. (Anexo I)

A continuación se muestran los resultados más relevantes del artículo “**Reproducibility and validity of a Food Frequency Questionnaire to assess diet in children aged 4-5 years**” en fase de remisión.

RESUMEN

Introducción: La evaluación de la dieta de forma válida es esencial para explorar las relaciones entre la dieta y la enfermedad. Herramientas precisas como el CFA son necesarias para medir la dieta en una población de niños. El objetivo de este estudio fue examinar la reproducibilidad y la validez (frente a 24HR y BM) de un CFA semi-cuantitativo en niños.

Metodología: Los participantes fueron 169 niños pertenecientes a un estudio de cohorte de nacimiento en Valencia (Estudio INMA). Comparamos las nutrientes y alimentos derivados de un CFA el cual se pasó en 2 ocasiones a lo largo de 9 meses para evaluar la reproducibilidad. Comparamos las estimaciones del CFA con la ingesta de nutrientes derivados de 3 24HR completados durante 9 meses y los niveles séricos de BM (carotenoides, vitamina C y α -tocoferol). Se estimaron coeficientes de correlación de Pearson para evaluar la reproducibilidad y validez frente a 24HR y BM, para evaluar la validez frente a 24Hr se calcularon además coeficientes de correlación de atenuados.

Resultados: Encontramos correlaciones significativas para reproducibilidad de nutrientes y grupos de alimentos, la media de los coeficientes de correlación para los grupos de alimentos fue de $r=0.43$ y de $r=0.41$ para los nutrientes. La media de los coeficientes de correlación de Pearson para la validez frente a 24HR fue de $r=0.30$, y de $r=0.44$ cuando se calcularon los coeficientes de correlación de atenuados. Cuando evaluamos la validez frente a BM, obtuvimos correlaciones significativas para vitamina C ($r=0.35$), licopeno ($r=0.31$), β -Criptoxantina ($r=0.40$), y vitamina E ($r=0.29$), la media de los coeficientes de correlación fue de $r=0.21$.

Conclusión: Nuestros resultados muestran que el CFA utilizado en el estudio INMA en España tiene una buena reproducibilidad y puede proporcionar una estimación válida de la dieta a través de grupos de alimentos y varios nutrientes importantes durante la infancia.

Resultados

Las características de los 590 niños separando en participantes del estudio de validación ($n=169$) y no participantes ($n=421$) se muestran en el Anexo I. Los niños participantes en el estudio de validación tuvieron una edad media de 4.3 años, el 20% tenían sobrepeso u obesidad, el 51% eran niñas, el estatus socioeconómico de los padres fue IV+V, y el 41% de los padres tenían un nivel educativo de escuela secundaria. El 70% de los niños eran usuarios de comedor

escolar al menos 1 vez a la semana. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los niños participantes y no participantes en el estudio de validación (excepto para la edad), de igual forma las estimaciones para los principales nutriente y energía fueron muy similares.

Reproducibilidad

Las ingestas medias diarias de nutrientes estimados a partir del CFA1 y del CFA2 se muestran en Anexo I. Exceptuando carbohidratos totales y α -caroteno, la ingestas de nutrientes y energía fueron ligeramente menores en el CFA1, tan solo el licopeno fue significativamente mayor en el CFA2. Los r para la reproducibilidad también se presentan en la tabla2, éstos oscilaron entre $r=0.340$ para los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) y $r=0.64$ para la β -criptoxantina, la media de los coeficientes de correlación para los 28 nutrientes y energía fue de $r=0.41$. De acuerdo a la calcificación por quintiles de ingesta según ambos métodos entre el 61.5% (fibra dietética) y 75.1% (β -caroteno) de los niños fueron clasificados en el mismo quintil en el quintil adyacente (tabla6). Cuando las ingestas se ajustaron por la ingesta calórica los r prácticamente permanecieron igual. Respecto a los 18 grupos de alimentos las estimación del CFA2 para lácteos, huevos, verduras, pan, patatas, dulces y azúcar fueron menores en el CFA2 respecto al CFA1, por el contrario las estimaciones para pescado azul fueron mayores en el CFA2 (tabla3). Los r para reproducibilidad oscilaron entre $r=0.16$ para carnes blancas y $r=0.72$ para lácteos, la media de los r fue de 0.43. Entre el 62.1% (pescado azul) y 99.4% (huevos) de los individuos fueron clasificados en el mismo quintil o en el quintil adyacente por ambos métodos de evaluación dietética (tabla7).

Table 6. Mean daily nutrient intakes and Pearson Correlation coefficients among children (n=169) of the Infancia y Medio Ambiente (INMA)–Valencia study

	FFQ1 ^a	FFQ2 ^a	p ^b	Pearson coefficient correlations between FFQ1 and FFQ2		Percent of agreement ^e
				Unadjusted ^c	Adjusted ^d	
Nutrientes (units/day)						
Energy (kcal/day)	1592 (328)	1628 (500)	0.437	0.35		68.0
Protein (g/day)	69 (14)	73 (23)	0.071	0.36	0.45	63.3
Total carbohydrates (g/day)	195 (47)	193 (65)	0.720	0.36	0.28	68.6
Dietary fiber (g/day)	15 (4.4)	15 (6.6)	0.914	0.35	0.30	61.5
Cholesterol	209 (49)	223 (87)	0.056	0.44	0.39	71.6
Total fat (g/ day)	63 (15)	66 (24)	0.121	0.33	0.31	68.0
SFA (g/ day)	23 (5.7)	23 (8.3)	0.404	0.39	0.46	70.4
MUFA (g/day)	26 (7.6)	28 (11)	0.110	0.30	0.30	66.9
PUFA (g/ day)	9.5 (2.6)	10 (4.6)	0.037	0.32	0.31	64.5
Omega 3 (g/day)	1.0 (0.3)	1.1 (0.4)	0.010	0.42	0.44	67.5
Omega 6 (g/day)	8.4 (2.4)	9.2 (4.3)	0.044	0.32	0.33	64.5
Retinol (µg/day)	498 (332)	556 (515)	0.222	0.34	0.36	71.6
α- carotene (µg/day)	296 (246)	265 (249)	0.246	0.39	0.38	71.0
β- carotene (µg/day)	1364 (866)	1454 (118)	0.427	0.53	0.53	75.1
β- Cryptoxanthin (µg/day)	170 (130)	202 (194)	0.080	0.64	0.62	74.0
Lutein+Zeaxanthin (µg/day)	935 (565)	1014 (734)	0.270	0.52	0.50	70.4
Lycopene (µg/day)	1466 (910)	2319 (1428)	<0.001	0.50	0.51	74.0
Vitamin B6 (mg /day)	1.3 (0.5)	1.4 (0.7)	0.006	0.42	0.31	68.0
Folato (µg/day)	185 (62)	199 (86)	0.100	0.43	0.49	65.7
Vitamin B12 (µg/day)	6.0 (2.4)	6.8 (4.1)	0.025	0.41	0.33	68.6
Vitamin C (mg /day)	64 (46)	79 (80)	0.029	0.60	0.56	71.0
Vitamin D (µg/day)	4.2 (2.4)	4.6 (2.3)	0.141	0.39	0.45	68.6
Vitamin E (mg/day)	8.0 (3.4)	8.9 (4.6)	0.015	0.40	0.52	65.1
Calcium (mg/day)	1048 (306)	1059 (419)	0.789	0.39	0.53	72.2
Iron (mg/day)	10.4 (4.8)	10.7 (7.0)	0.684	0.43	0.43	65.1
Magnesium (mg/day)	235 (55)	242 (80)	0.339	0.38	0.53	68.6
Sodium (mg/day)	2131 (469)	2195 (733)	0.340	0.33	0.30	64.5
Zinc (mg/day)	8.6 (2.0)	9.1 (3.0)	0.071	0.40	0.43	66.9
Iodine (µg/day)	144 (48)	145 (61)	0.827	0.42	0.54	69.8
Average				0.41	0.42	68.5

^a FFQ1 & FFQ2 administered with a 6 months difference; ^b P-value paired t-test; ^c Nutrient crude intakes were log-transformed; ^d Adjusted for total energy; ^e Overall percentage categorized in the same or an adjacent quintile; SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, Polyunsaturated fatty acids; all coefficients p<0.01.

Table 7. Mean daily food and food groups intake and Pearson Correlation coefficients among children (n=169) of the Infancia y Medio Ambiente (INMA)–Valencia study

	FFQ1 ^a		p ^b	Pearson coefficient correlations between FFQ1 and FFQ2		Percent of agreement ^e
	Mean (SD)	Mean (SD)		Unadjusted ^c	Adjusted ^d	
Foods (g/day)						
Dairy Products (g/day)	541 (215)	539 (272)	0.940	0.72	0.80	74.6
Eggs (g/day)	14 (5)	13 (7)	0.332	0.39	0.40	99.4
White meat (g/day)	24 (11)	27 (15)	0.085	0.16*	0.18*	63.3
Red meat (g/day)	25 (13)	30 (21)	0.005	0.40	0.38	66.3
Processed meat (g/day)	31 (12)	32 (22)	0.596	0.41	0.39	66.9
Fatty fish (g/day)	8 (7)	13 (12)	<0.001	0.35	0.34	62.1
Lean fish (g/day)	15 (10)	18 (11)	0.045	0.41	0.43	63.3
Seafood (g/day)	8 (5)	11 (9)	0.002	0.56	0.50	71.6
Fruits (g/day)	155 (123)	203 (252)	0.027	0.54	0.51	72.2
Vegetables (g/day)	58 (41)	57 (43)	0.811	0.64	0.65	78.1
Nuts (g/day)	4 (4)	4 (10)	0.874	0.40	0.41	86.4
Legumes (g/day)	18 (11)	21 (20)	0.094	0.39	0.41	66.9
Cereals and Pasta (g/day)	59 (26)	63 (30)	0.156	0.24	0.27	68.6
Bread (g/day)	73 (39)	60 (46)	0.007	0.34	0.36	63.9
Potatoes (g/day)	32 (15)	29 (16)	0.125	0.58	0.60	64.5
Sweets and sugar (g/day)	55 (29)	49 (37)	0.072	0.43	0.49	72.8
Vegetable Fat (g/day)	11 (8)	13 (11)	0.080	0.34	0.35	66.3
Average				0.43	0.44	71.01

^a FFQ1 & FFQ2 administered with a 6 months difference; ^b P-value paired t-test; ^c Nutrient crude intakes were log-transformed; ^d Adjusted for total energy; ^e Overall percentage categorized in the same or an adjacent quintile; *p<0.05, all other coefficients p<0.01.

Validez

La ingesta media de nutrientes/día estimado a partir del CFAav y 24HRav se muestran en tabla 8. Las ingestas de nutrientes y energía fueron mayores en CFAav que en 24HR. Los r para evaluar la validez se muestran también en la tabla 4, éstos oscilaron entre r=0.003 para los Omega3 y r=0.54 para el calcio, la media de r para los nutrientes y energía fue de 0.30. Cuando se estimaron los r deatenuados éstos mejoraron oscilando entre r= 0.19 (PUFA) y r=0.91 (hierro), la media de los r fue de 0,44. Cuando se ajustaron las estimaciones para nutrientes con la ingesta calórica los r permanecieron prácticamente inalterados. La tabla 9 muestra la ingesta media de nutrientes, frutas y verduras estimadas a partir del CFA1 y los valores medios de los BM para esos nutrientes. Dicha tabla muestra los r entre las estimaciones del CFA y los valores séricos medios de BM, los r más bajos fueron para luteína+zeaxantina (r=0.009), β-caroteno (r=0.15), α-caroteno (r=0.12) y retinol (r=0.15); los r más altos fueron para vitamina C (r=0.33), β-criptoxantina (r=0.37) y vitamina E (r=0.23); la media de r fue de 0.21. Cuando las ingestas derivadas del CFA1 se ajustaron por la ingesta calórica y los carotenoides y vitamina E por

colesterol total algunos r mejoraron y la media fue de 0.22. El coeficiente de correlación entre fruta y verdura estimada a partir del CFA y la media de BM para carotenoides fue de 0.14. Entre el 55.8% (retinol) y 64.8% (β -criptoxantina) de los niños fueron clasificados en el mismo quintil o en el quintil adyacente por el FFQ1 y los BM.

Table 8. Mean daily food intakes by the average of the FFQs and the average of the 24HRs and Pearson Correlation coefficients in children (n=169) of the Infancia y Medio Ambiente (INMA)–Valencia study

	FFQav ^a	24HRav ^b	p ^c	Pearson coefficient correlations between FFQav and 24HRav			Percent of agreement ^g
				Mean (SD)	Mean (SD)	Unadjusted ^d	
Nutrients (units/day)							
Energy (kcal/day)	1610 (350)	1255 (183)	<0.001		0.29		64.5
Protein (g/day)	70 (16)	53 (9.5)	<0.001	0.30	0.38	0.55	62.7
Total carbohydrates (g/day)	194 (48)	161 (29)	<0.001	0.30	0.29	0.41	60.4
Dietary fiber (g/day)	15 (4.7)	11 (3.5)	<0.001	0.26	0.22	0.32	63.9
Cholesterol	216 (58)	178 (61)	<0.001	0.31	0.21	0.30	62.7
Total fat (g/ day)	65 (16)	46 (8.9)	<0.001	0.26	0.18	0.26	60.9
SFA (g/ day)	23 (5.9)	18 (4.0)	<0.001	0.39	0.40	0.58	63.3
MUFA (g/day)	27 (7.5)	19 (4.0)	<0.001	0.21	0.14	0.20	62.7
PUFA (g/ day)	9.9 (2.9)	5.8 (1.4)	<0.001	0.11	0.13	0.19	57.4
Omega 3 (g/day)	1.0 (0.3)	0.8 (0.3)	<0.001	0.05	0.19	0.27	52.7
Omega 6 (g/day)	8.8 (2.7)	4.9 (1.3)	<0.001	0.15	0.16	0.23	57.4
Retinol (μ g/day)	527 (342)	291 (148)	<0.001	0.26	0.21	0.30	57.4
α - carotene (μ g/day)	280 (213)	204 (234)	0.002	0.31	0.34	0.49	66.3
β - carotene (μ g/day)	1409 (888)	681 (600)	<0.001	0.34	0.38	0.55	60.9
β - Cryptoxanthin (μ g/day)	186 (147)	69 (108)	<0.001	0.30	0.31	0.44	62.7
Lutein+Zeaxanthin (μ g/day)	974 (572)	364 (465)	<0.001	0.25	0.30	0.43	63.3
Lycopene (μ g/day)	1893 (1003)	702 (1038)	<0.001	0.36	0.37	0.53	62.1
Vitamin B6 (mg /day)	1.4 (0.5)	1.0 (0.4)	<0.001	0.29	0.32	0.46	63.9
Folato (μ g/day)	192 (64)	124 (38)	<0.001	0.23	0.23	0.33	55.0
Vitamin B12 (μ g/day)	6.4 (2.7)	3.7 (1.6)	<0.001	0.29	0.32	0.46	62.1
Vitamin C (mg /day)	72 (59)	38 (24)	<0.001	0.36	0.40	0.57	62.1
Vitamin D (μ g/day)	4.4 (2.0)	4.2 (1.7)	0.348	0.36	0.29	0.42	62.1
Vitamin E (mg/day)	8.3 (3.3)	3.7 (1.0)	<0.001	0.25	0.22	0.31	56.8
Calcium (mg/day)	1054 (309)	784 (205)	<0.001	0.54	0.58	0.84	70.4
Iron (mg/day)	10.5 (4.9)	8.8 (4.6)	<0.001	0.49	0.63	0.91	70.4
Magnesium (mg/day)	238 (58)	178 (33)	<0.001	0.36	0.33	0.48	61.5
Sodium (mg/day)	2163 (498)	1689 (440)	<0.001	0.19	0.25	0.36	57.4
Zinc (mg/day)	8.9 (2.2)	6.4 (1.2)	<0.001	0.32	0.37	0.53	59.8
Iodine (μ g/day)	145 (47)	92 (38)	<0.001	0.46	0.34	0.49	65.7
Average				0.30	0.30	0.44	61.7

^a Average of FFQ1 and FFQ2; ^b Average of the three 24HR; ^c p value from t-test; ^d Nutrient crude intakes were log-transformed; ^e Adjusted for total energy; ^f log-transformed, adjusted for total energy and deattenuated; ^gOverall^l percentage categorized in the same or an adjacent quintile; SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, Polyunsaturated fatty acids; p value <0.01 for correlations ≥ 0.2 ; p value <0.05 for correlations 0.15 to 0.19; all other values p>0.05.

Table 9. Mean daily nutrient and food intakes by the first FFQ and nutrient plasma concentration and Pearson correlation coefficients in children (n=165) of the Infancia y Medio Ambiente (INMA)–Valencia study.

Nutrients and foods	FFQ1 Mean (SD)	Plasma Concentration Mean (SD)	Pearson coefficient correlations between FFQ1 and plasma concentrations		Agreement (%) ^c
			r ^a	r ^b	
Vitamin E (µg/dl)	7.9 (3.4)	1105 (178)	0.23*	0.29*	61.2
Lutein + Zeaxanthin (µg/dl)	942 (568)	19 (4.7)	0.09	0.05	57.6
β- Cryptoxanthin (µg/dl)	169 (131)	23 (13)	0.37*	0.40*	64.8
Lycopene (µg/dl)	1478 (912)	53 (20)	0.27*	0.31*	56.4
α- carotene (µg/dl)	297 (248)	19 (6.5)	0.12	0.12	57.0
β- carotene (µg/dl)	1367 (869)	34 (16)	0.15	0.15	60.6
Retinol (µg/dl)	505 (333)	31 (6.2)	0.14	0.06	55.8
Vitamin C (µmol/l) [†]	64 (47)	55 (18)	0.33*	0.35*	61.1
<i>Average</i>			0.21	0.22	59.3
Fruits and vegetables (g/day) & Total carotenoids (µg/dl) ^d	213 (143)	95 (29)	0.137	0.140	58.2

^a Nutrient intakes were log-transformed; ^b Adjusted for total energy and plasma carotenoids and vitamin E for total cholesterol; ^c Overall proportion categorized in the same or an adjacent quintile; ^d Carotenoids sum of α- carotene, β- carotene, Lutein + Zeaxanthin, β- Cryptoxanthin, Lycopene; ^e Carotenoids sum of α- carotene, β- carotene, Lutein + Zeaxanthin, β- Cryptoxanthin; [†] n=157; * p<0.01, all other p>0.05

8.3 Resultados artículo 3. (Anexo II)

A continuación se muestran los resultados más relevantes del artículo “**Reproducibility and validity of a semi-quantitative food frequency questionnaire in Spanish young adults**” en fase de remisión.

RESUMEN

Introducción: La medición de la dieta es esencial para poder explorar la influencia de la dieta en el desarrollo de enfermedades. El CFA es la herramienta más utilizada para evaluar la dieta en diferentes poblaciones, pero su uso en población de adultos jóvenes en el área mediterránea es escasa. El objetivo de este estudio fue evaluar la reproducibilidad y validez (frente a varios 24HR y niveles séricos de BM) de un CFA semi-cuantitativo en una población mediterránea de adultos jóvenes para estimar la ingesta de grupos de alimentos y nutrientes.

Metodología: Los 169 adultos jóvenes incluidos en los análisis fueron una submuestra del estudio DiSA-UMH. Los participantes completaron 2 CFA auto administrados y un mínimo de 3 24HR durante año. También se recogieron muestras de sangre en ayunas al inicio del estudio para estimar los niveles séricos de biomarcadores de ingesta dietética para algunos carotenoides, vitamina C y α -tocoferol. Se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson para evaluar la reproducibilidad del CFA a lo largo de un año y la validez del CFA frente a los 24HR y los BM.

Resultados: Encontramos correlaciones significativas entre los dos CFA (reproducibilidad) para todos los nutrientes y grupos de alimentos. La medida de coeficientes de correlación para la reproducibilidad fue de $r=0.53$ para nutrientes y de $r=0.54$ para los grupos de alimentos. Los coeficientes de correlación para la validez de las estimaciones de nutrientes del CFA frente a 24HR oscilaron entre $r=0.10$ para vitamina B12 y $r=0.60$ para β -caroteno, la media de los coeficientes de correlación fue de $r=0.41$. Cuando evaluamos la validez frente a BM encontramos coeficientes de correlación estadísticamente significativos para algunos carotenoides y vitamina C, excepto para α -tocoferol ($r=0.08$), la media de los coeficientes de correlación fue de $r=0.29$.

Conclusión: Nuestros hallazgos sugieren que CFA tiene una buena reproducibilidad para estimar nutrientes y grupos de alimentos, y que puede proporcionar una estimación válida de nutrientes cuando comparamos las estimaciones del CFA con 24HR y BM en una población mediterránea de adultos jóvenes españoles.

Resultados

Las principales características de los 1165 estudiantes universitarios diferenciados entre participantes (n=169) y no participantes (n=996) se muestran en el Anexo II. Los participantes en el estudio de validación tenían una edad media de 24 años, el 75.7% de los participantes fueron mujeres, el 10.7% declararon ser fumadores, y el 56.1% declararon ser sedentario o muy poco activos, el 89.6% declararon tener una salud buena o excelente, el 13.1% tenía exceso de peso. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los participantes y no participantes en el estudio de validación excepto para la edad y el hábito tabáquico. Las estimaciones para energía y macronutrientes fueron similares entre los participantes y no participantes en el estudio de validación.

Reproducibilidad

La ingesta media diaria de nutrientes y grupos de alimentos estimados a partir del CFA y el CFA2 y los r para los nutrientes y grupos de alimentos se presentan en el Anexo II. En general las ingestas derivadas del CFA2 fueron menores que las del CFA1, aunque algunos carotenoides (α - y β -caroteno, luteína+zeaxantina) y alcohol fueron mayores en el CFA2. Pero no hubieron diferencias estadísticamente significativas. Los r para la reproducibilidad de nutrientes oscilaron entre $r=0.39$ (zinc) y $r=0.78$ (alcohol), la media de los r para nutrientes y energía fue de 0.53. El ajuste por calorías no mejoró los r. En la tabla 10 también se muestran las estimaciones y los r para 18 grupos de alimento. La ingesta media para 6 grupos de alimentos fueron menores en CFA1 que en el CFA2 (carnes blancas, pescado blanco, frutos secos, legumbres, patatas y pan) pero no hubieron diferencias estadísticamente significativas. Los r oscilaron entre 0.38 (carne roja) y $r=0.74$ (bebidas azucaradas) la media de los r para los 28 grupos de alimentos fue de 0.54. Los r no mejoraron al ajustar por la ingesta calórica. De acuerdo a la clasificación de la ingesta dietética por quintiles entre el 63.9% (calcio) y 89.9% (alcohol) de los individuos fueron clasificados en el mismo quintil o quintil adyacente por el CFA1 y el CFA2. De igual forma para grupos de alimentos entre 65.1% (carne roja) y el 98% (huevos) de los individuos fueron clasificados en el mismo quintil o el adyacente.

Table 10. Mean daily nutrient and food intakes and Pearson correlation coefficients (*r*) among university students of the DiSA-UMH Study (n=169)

Nutrientes (units/day)	FFQ1 ^a	FFQ2 ^a	p ^b	r FFQ1- FFQ2		Agreement (%) ^c
	Mean (SD)	Mean (SD)		Unadjusted ^c	Adjusted ^d	
Energy (kcal)	2021 (526)	1925 (535)	0.099	0.48		70.4
Protein (g)	88 (22)	85 (27)	0.240	0.44	0.47	70.4
Total carbohydrates (g)	215 (80)	203 (65)	0.148	0.60	0.44	78.1
Dietary fiber (g)	21 (8.7)	21 (7.8)	0.854	0.58	0.44	74.0
Cholesterol (mg)	281 (88)	265 (100)	0.144	0.42	0.38	65.1
Total fat (g)	91 (26)	87 (29)	0.146	0.42	0.57	68.6
SFA (g)	27 (8.9)	24 (9.3)	0.023	0.50	0.63	71.6
MUFA (g)	44 (14)	41 (15)	0.198	0.42	0.55	69.8
PUFA (g)	14 (5.0)	14 (5.7)	0.760	0.47	0.54	73.4
Omega 3 (g)	1.5 (0.4)	1.4 (0.5)	0.456	0.50	0.60	73.4
Omega 6 (g)	13 (4.7)	13 (5.4)	0.691	0.48	0.55	72.2
Retinol (µg)	735 (966)	615 (840)	0.223	0.50	0.48	77.5
α- carotene (µg)	521 (545)	564 (620)	0.505	0.58	0.53	74.6
β- carotene (µg)	3944 (2652)	3976 (2659)	0.910	0.62	0.55	75.7
β- Cryptoxanthin (µg)	267 (233)	245 (193)	0.336	0.55	0.50	75.1
Lutein+Zeaxanthin (µg)	2960 (2258)	2993 (2168)	0.892	0.66	0.61	83.4
Lycopene (µg)	4446 (3141)	4012 (2468)	0.159	0.42	0.41	72.2
Vitamin B6 (mg)	1.7 (0.6)	1.7 (0.6)	0.568	0.57	0.51	72.8
Folato (µg)	287 (115)	278 (102)	0.421	0.59	0.49	76.9
Vitamin B12 (µg)	9.5 (5.9)	8.8 (5.8)	0.234	0.50	0.46	75.7
Vitamin C (mg)	135 (96)	132 (82)	0.754	0.59	0.52	78.7
Vitamin D (µg)	3.4 (1.4)	3.4 (1.5)	0.783	0.59	0.59	77.5
Vitamin E (mg)	12 (4.3)	12 (4.5)	0.885	0.49	0.54	69.8
Calcium (mg)	1033 (379)	942 (344)	0.021	0.46	0.48	63.9
Iron (mg)	12 (3.4)	11 (3.7)	0.300	0.45	0.28	74.0
Magnesium (mg)	331 (102)	325 (101)	0.534	0.57	0.69	76.3
Potassium (mg)	3163 (1108)	3056 (1007)	0.350	0.63	0.61	76.3
Sodium (mg)	2691 (773)	2602 (813)	0.302	0.45	0.46	71.6
Zinc (mg)	11 (2.7)	10 (3.3)	0.126	0.39	0.27	69.8
Iodine (µg)	109 (44)	102 (43)	0.164	0.63	0.63	74.0
Alcohol (g)	4.2 (5.3)	4.3 (6.3)	0.854	0.78	0.77	89.9
<i>Average</i>				0.53	0.52	74.0
Foods (g/day)						
Dairy Products	399 (209)	360 (192)	0.073	0.64	0.65	74.0
Eggs	18 (9.9)	17 (8.4)	0.529	0.44	0.41	98.8
White meat	27 (18)	28 (19)	0.457	0.49	0.47	73.4
Red meat	42 (33)	42 (30)	0.904	0.38	0.40	65.1
Processed meat	31 (25)	28 (24)	0.264	0.63	0.61	79.3
Lean fish	27 (20)	31 (23)	0.086	0.54	0.48	69.2
Fatty fish	27 (23)	26 (22)	0.887	0.57	0.57	67.5
Seafood	12 (9.3)	11 (9.1)	0.570	0.55	0.56	75.1
Vegetables	260 (181)	249 (167)	0.568	0.56	0.48	73.4
Fruits	298 (270)	292 (218)	0.826	0.47	0.37	74.0
Nuts	6.0 (8.5)	6.8 (9.9)	0.390	0.50	0.48	87.6
Legumes	29 (27)	30 (27)	0.786	0.59	0.55	95.3
Cereals and pasta	100 (60)	92 (47)	0.172	0.49	0.47	72.2
Potatoes	46 (36)	47 (44)	0.702	0.47	0.44	71.0
Bread	74 (55)	75 (60)	0.922	0.44	0.48	68.0
Sweets and sugar	45 (36)	40 (33)	0.164	0.61	0.61	81.1
Sweetened beverages	216 (274)	188 (212)	0.283	0.74	0.73	90.5
Vegetable Fat	29 (16)	28 (17)	0.618	0.53	0.62	70.4
<i>Average</i>				0.54	0.52	77.0

^a FFQ1 & FFQ2 administered with a difference of approximately 1 year; ^b P-value paired t-test; ^c Nutrient crude intakes were log-transformed; ^d Adjusted for total energy; ^e Overall percentage categorized in the same or an adjacent quintile; SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, Polyunsaturated fatty acids; all coefficients p<0.01.

Validez

La ingesta media de nutrientes fueron mayores en CFAav que en 24HRav, excepto para carbohidratos, α -caroteno, vitamina B6, vitamina D y hierro. Los r oscilaron entre $r=0.10$ (vitamina B12) y $r=0.60$ (β -caroteno), la media de r para los 30 nutrientes y energía fue de 0.41. Los r ajustados por la ingesta calórica oscilaron entre $r=0.04$ (hierro) y $r=0.60$ (β -caroteno) la media de r para los nutrientes y energía fue de 0.42. Entre el 53.3% (vitamina B12) y 72.2% (β -caroteno) de los individuos fueron clasificados en el mismo quintil o quintil adyacente por el CFAav y por 24HRav (tabla11). Cuando los análisis de correlación fueron realizados por categoría como sexo, hábito tabáquico, salud auto-reportada y exceso de peso los r prácticamente no cambiaron.

La tabla12 muestra la ingesta media de 8 nutrientes y de frutas y verduras derivadas del CFA1 y los niveles medios de BM para esos nutrientes, muestra también los r para la validez. Los r oscilaron entre $r=0.08$ (vitaminaE) y $r=0.42$ (β -criptoxantina, β -caroteno), la media de r para los nutrientes fue de 0.29. Los r para los nutrientes ajustados por calorías y los BM ajustados por colesterol total fueron muy similares al los datos no ajustados. Al compara la ingesta derivada del CFA1 para frutas y verduras con la suma de los BM para carotenoides (suma de α -caroteno, β -caroteno, luteína+zeaxantina, β -criptoxantina) r fue de 0.41 (sin ajustar) y $r=0.42$ (nutrientes ajustados por calorías y carotenoides y vitamina E por colesterol total). De acuerdo a la clasificación en quintiles estimados a partir del CFA1 y los BM, entre el 54.3% (vitamina E, licopeno) y el 68.6% (β -criptoxantina) de los individuos fueron clasificados en el mismo quintil o en el adyacente. Cuando el análisis de validación entre FFQ1 y BM se realizó de acuerdo a la clasificación de los participantes en exceso/no exceso de peso, la media de los r para los individuo que no tenían exceso de peso ($n=91$) fueron mejores que para toda la muestra ($r=0.31$ vs $r=0.29$). De igual forma al estratificar por fecha en la cual se extrajo la muestra de sangre, los r fueron mejores para la muestras extraídas en invierno ($n=79$, $r=0.35$) que cuando teníamos en cuenta toda la muestra ($n=106$, $r=0.29$).

Table 11. Mean daily food intakes by the average of the FFQs and the average of the 24HRs and Pearson Correlation coefficients (*r*) in university students (n=169)

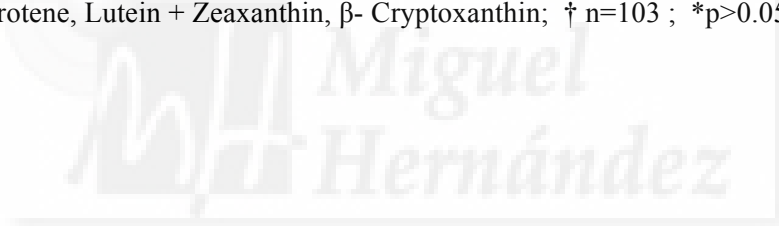
Nutrients (units/day)	FFQav ^a	R24av ^b	p ^c	<i>r</i>		Agreement (%) ^f
	Mean (SD)	Mean (SD)		FFQav ^a and 24HRav ^b Unadjusted ^d	Adjusted ^e	
Energy (kcal)	1973 (456)	1803 (411)	<0.001	0.41		68.6
Protein (g)	87 (21)	85 (20)	0.512	0.44	0.56	69.8
Total carbohydrates (g)	209 (65)	214 (54)	0.424	0.46	0.51	65.1
Dietary fiber (g)	21 (7.4)	19 (6.3)	0.013	0.48	0.58	70.4
Cholesterol (mg)	273 (79)	259 (89)	0.116	0.42	0.32	63.9
Total fat (g)	89 (23)	68 (20)	<0.001	0.41	0.49	66.3
SFA (g)	26 (7.8)	21 (6.9)	<0.001	0.45	0.55	64.5
MUFA (g)	42 (12)	31 (9.7)	<0.001	0.42	0.49	69.2
PUFA (g)	14 (4.5)	11 (3.5)	<0.001	0.39	0.37	65.1
Omega 3 (g)	1.4 (0.4)	1.3 (0.5)	0.016	0.45	0.48	66.3
Omega 6 (g)	13 (4.2)	9.4 (3.1)	<0.001	0.39	0.36	68.6
Retinol (µg)	675 (746)	457 (377)	0.001	0.12*	0.07*	58.0
α- carotene (µg)	542 (515)	561 (563)	0.749	0.40	0.41	68.0
β- carotene (µg)	3960 (2401)	2907 (1955)	<0.001	0.60	0.60	72.2
β- Cryptoxanthin (µg)	256 (190)	190 (145)	<0.001	0.39	0.37	65.7
Lutein+Zeaxanthin (µg)	2976 (1945)	2092 (2432)	<0.001	0.53	0.51	67.5
Lycopene (µg)	4229 (2354)	2746 (2406)	<0.001	0.28	0.31	60.9
Vitamin B6 (mg)	1.7 (0.5)	2.2 (1.1)	<0.001	0.29	0.32	63.3
Folato (µg)	282 (96)	214 (85)	<0.001	0.46	0.50	67.5
Vitamin B12 (µg)	9.2 (4.8)	7.5 (4.4)	0.001	0.10*	0.07*	53.3
Vitamin C (mg)	133 (80)	118 (55)	0.040	0.51	0.54	68.0
Vitamin D (µg)	3.4 (1.3)	3.7 (1.6)	0.128	0.51	0.49	66.9
Vitamin E (mg)	12 (3.7)	8.4 (3.2)	<0.001	0.37	0.51	66.9
Calcium (mg)	988 (302)	817 (222)	<0.001	0.52	0.53	68.6
Iron (mg)	11.4 (3.0)	13 (4.6)	0.001	0.26	0.04*	60.4
Magnesium (mg)	328 (89)	296 (72)	<0.001	0.40	0.55	66.3
Potassium (mg)	3110 (952)	2846 (753)	0.005	0.48	0.57	69.8
Sodium (mg)	2647 (672)	2306 (580)	<0.001	0.46	0.35	71.6
Zinc (mg)	11 (2.5)	9.5 (3.0)	0.001	0.18**	0.05*	58.6
Iodine (µg)	106 (39)	89 (34)	<0.001	0.53	0.49	70.4
Alcohol (g)	4.3 (5.5)	1.8 (3.5)	<0.001	0.54	0.54	65.1
<i>Average</i>				0.41	0.42	66.0

^a Average of FFQ1 and FFQ2; ^b Average of the 24HR; ^d Nutrient crude intakes were log-transformed; ^e Adjusted for total energy; ^f Overall percentage categorized in the same or an adjacent quintile; SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, Polyunsaturated fatty acids; *p>0.05, ** p<0.05 all other p<0.01

Table 12. Mean daily nutrient and food intakes by the first FFQ and nutrient plasma concentration and Pearson correlation coefficients (*r*) in university students (n=105).

Nutrients and foods	FFQ1	Plasma Concentration	<i>r</i> FFQ1 and plasma concentrations		Agreement (%) ^c
	Mean (SD)	Mean (SD)	<i>r</i> ^a	<i>r</i> ^b	
Vitamin E (µg/dl)	12 (3.8)	1312 (277)	0.08*	0.10*	54.3
Lutein + Zeaxanthin (µg/dl)	3072 (2299)	20 (9.9)	0.31	0.38	55.2
β- Cryptoxanthin (µg/dl)	264 (234)	17 (15)	0.42	0.37	68.6
Lycopene (µg/dl)	4762 (3092)	39 (17)	0.23**	0.22**	54.3
α- carotene (µg/dl)	585 (616)	6.7 (4.2)	0.35	0.37	61.9
β- carotene (µg/dl)	4157 (2771)	21 (14)	0.42	0.42	61.0
Retinol (µg/dl)	728 (965)	43 (12)	0.22**	0.19**	58.1
Vitamin C (µmol/l) [†]	133 (92)	31 (14)	0.25	0.25	63.1
Average			0.29	0.29	59.6
Fruits and vegetables (g/day)	584 (426)	64 (32)	0.41	0.42	60.0
& Total carotenoids (µg/dl)					

^a Nutrient intakes were log-transformed; ^b Adjusted for total energy and plasma carotenoids and vitamin E for total cholesterol; ^c Overall proportion categorized in the same or an adjacent quintile; ^d Carotenoids sum of α- carotene, β- carotene, Lutein + Zeaxanthin, β- Cryptoxanthin; [†] n=103 ; *p>0.05, ** p<0.05 all other p<0.01



9. DISCUSIÓN GENERAL

Cada uno de los artículos que forman esta tesis incluyen un apartado de discusión donde se han descrito con detalle los principales hallazgos y la consistencia o no con otros estudios disponibles. Hacemos una breve presentación y discusión de algunos de los resultados más relevantes que hemos encontrado y alguna consideración conjunta final.

CFA de 101 ítems en embarazadas.

Los resultados del estudio de validación del cuestionario de 101 ítems muestran que el CFA diseñado para evaluar la dieta en embarazadas del Estudio INMA es un buen método para evaluar la dieta y puede generalizarse su uso a otras mujeres españolas embarazadas. El CFA muestra un buen grado de reproducibilidad para la ingesta de la mayoría de alimentos y nutrientes, y una aceptable validez relativa para algunos nutrientes de interés especial durante el embarazo. Por lo que sabemos, este sería el primer estudio donde se ha validado un CFA en mujeres embarazadas españolas con una muestra lo suficientemente grande como para detectar como estadísticamente significativos coeficientes de correlación de baja magnitud cuya validez podría ser cuestionada por ello ($r > 0.20$).

Reproducibilidad

La validez del CFA en mujeres ha estado condicionada por el propio periodo de embarazo y el tiempo empleado para valorar reproducibilidad y validez ha tenido que ser necesariamente más corto que el habitualmente empleado en otros estudios con adultos que suele ser de un año. Por ello el periodo usado para valorar reproducibilidad en mujeres embarazadas ha usado tiempos más cortos lo que podría dar lugar a una reproducibilidad artificialmente mejorada debido a la cercanía en el tiempo de pasar ambos CFA en la semana 12 y semana 32. La media de los r para la reproducibilidad de nutrientes fue de 0.51. Los resultados fueron muy similares a los encontrados en un estudio de validación de mujeres embarazadas finlandesas donde la media de los r fue de 0.66 (Erkkola et al., 2001), de igual forma fueron muy similares aunque menores en un estudio en mujeres portuguesas ($r=0.62$ para 15 nutrientes) (Pinto et al., 2010) y mujeres de Malasia (media de r para nutrientes 0.87) (Loy et al., 2011) en ambos casos el periodo donde se evaluaba la reproducibilidad era más corto que en nuestro estudio de validación del CFA de 101 ítems. Muy pocos estudios evalúan la reproducibilidad de alimentos y grupos de alimentos en mujeres embarazadas, y pese a que los alimentos no se suelen agrupar de igual forma los resultados son similares a los encontrados en la bibliografía (Erkkola et al., 2001; Loy et al., 2011; Ortiz-Andrellucchi et al., 2009). Se debe tener en cuenta que nuestra población era de carácter poblacional con un porcentaje cercano al 10% de mujeres procedentes de otros países y culturas diferentes, lo que ha podido influir para

observar menores coeficientes de correlación.

Validez

Dado el gran número de mujeres embarazadas que participaban en el estudio y a que muchas de ellas tenían un nivel de educación bajo y país de origen diferente de España, y que el periodo de seguimiento fue muy corto, fue prácticamente inviable utilizar otros métodos de evaluación dietética como referencia para validar el CFA, como los recordatorios de 24 horas y registros dietéticos. Por ello la validez del CFA de 101 ítems se evaluó comparando sus estimaciones con las de BM. Se obtuvieron bajos r para retinol y para alfa-tocoferol ($r=0.05$), resultados que coinciden con los encontrados en la bibliografía (Brantsaeter et al., 2007; Scaife et al., 2006). En cuanto a estos resultados se ha sugerido que los niveles séricos de retinol están altamente regulados por el hígado, en cuanto a la vitamina E se ha sugerido que preferible utilizar otros tejidos como el adiposo para evaluar la ingesta de esta vitamina a largo plazo. Cuando los análisis de validez se realizaron teniendo en cuenta la estación del año las correlaciones para carotenoides mejoraron, las correlaciones para licopeno en las muestras extraídas en primavera y verano fueron mejores que las del resto de estaciones, así mismo las correlaciones para retinol de las muestras extraídas en invierno fueron más altas que las del resto de estaciones, lo que pone de manifiesto como influye la ingesta de alimentos ricos en carotenoides según la estación del año. Las correlaciones para vitamina B12, Vitamina C y especialmente ácido fólico mejoraron cuando se tuvo en cuenta las estimaciones a partir de las ingestas de suplementos.

CFA de 105 ítems en niños 4 años

Los resultados de la validación del CFA de 105 ítems muestran que se trata de una herramienta válida y fiable. La reproducibilidad de alimentos y nutrientes presenta unos buenos coeficientes de correlación y una aceptable validez frente a 24HR y niveles séricos de BM. El CFA fue desarrollado a partir del CFA previamente validado en mujeres embarazadas, adaptando las porciones y alimentos típicamente consumidos a la edad de 4-5 años, para evaluar a dieta en los hijos de las madres que participaban en el estudio INMA. Al igual que lo mencionado anteriormente para el CFA de las mujeres embarazadas, según lo investigado y analizado en la literatura, sería el primer estudio de validación de un CFA en población infantil de 4-5 años de edad del área mediterránea donde, además, se utilizaron 2 *gold standard* para las estimaciones de validez.

Reproducibilidad

En el estudio de validación del CFA de 105 ítems para evaluar la dieta en niños de 4 años la reproducibilidad del cuestionario se evaluó en dos puntos de tiempo separados un

periodo de entre 6 y 9 meses y no de un año como suele hacerse con adultos, ya que periodos mas largos en la aplicación del CFA podrían afectar a la reproducibilidad y validez por los posibles cambios en la alimentación que pueden ocurrir en los niños a esas edades ligados a los rápidos cambios en el crecimiento. En general muy pocos estudios de validación en niños evalúan la reproducibilidad (Field et al., 1999; Klohe et al., 2004; Kobayashi et al., 2011; Preston et al., 2011; Sahashi et al., 2011; Watson et al., 2009).

En estudios donde la reproducibilidad se evalúa en un periodo de tiempo mas corto y en niños mayores se han observado mejores coeficientes de correlación (Sahashi et al., 2011; Watson et al., 2009). Tiempos cortos en la administración de los cuestionarios puede dar lugar a una mejor correlación artificial debida a la cercanía en el tiempo entre ambos cuestionarios por efectos de memoria, además los niños mayores ya son capaces de describir su propia dieta, son capaces de pensar de forma abstracta y están familiarizados con el concepto “ingesta habitual de alimentos” o en su caso ayudar a los padres a que la describan.

En cuanto a la reproducibilidad de grupos de alimentos las diferentes agrupaciones hacen difícil la comparabilidad entre los diferentes estudios, (Field et al., 1999) aunque los resultados son comparables a los de reproducibilidad de nutrientes, estudios donde se evalúa la reproducibilidad en un corto espacio de tiempo obtienen mejores coeficientes de correlación entre los grupos de alimentos (Klohe et al., 2004).

Validez

La validez se evaluó comparando las estimaciones de la media de los dos CFA (CFAav) frente a la media de 3 recordatorios de 24 horas. En nuestro estudio la media de los coeficientes de correlación para la validez de nutrientes fue de $r=0.28$, similar a la media encontrada en un estudio de validación en niños de 1 a 3 años ($r=0.31$) (Parrish et al., 2003). En general los resultados de validez frente a recordatorios fueron similares a los encontrados en la bibliografía (Rockett et al., 1997). Las ingestas de nutrientes y grupos de alimentos estimadas por CFA fueron mayores que las estimadas por los 24HR lo que coincide con otros estudios (Blum et al., 1999; Field et al., 1999; Parrish et al., 2003; Stein et al., 1992).

Algunos coeficientes de correlación para la validez resultaron ser bajos (PUFA, Omega3), lo que pudiera deberse a que el 71% de los niños eran usuarios de comedor escolar al menos 1 vez a la semana y sus padres o cuidadores no conocían de forma completa la ingesta dietética de sus hijos, al estimar las correlaciones de validez solo para los niños que no eran usuario de comedor escolar ($n=50$) los coeficientes de correlación mejoraron (media de los coeficientes de correlación $r=0.34$). Además al calcular los coeficientes de correlación deatenuados para reducir el efecto de la variabilidad intraindividual en los 24HR todos los coeficientes de correlación mejoraron (media de los coeficientes de correlación deatenuados $r=0.44$).

La validez del cuestionario de 105 ítems también se evaluó frente a BM. Se obtuvieron bajos coeficientes de correlación para retinol, α -caroteno and luteína + zeaxantina. Lo que coincide con otros estudios de validación en niños (Ortiz-Andrellucchi et al., 2009; Parrish et al., 2003) y en otras poblaciones (Henriquez-Sanchez et al., 2009; Vioque et al., 2007). En un estudio con niños mayores (9 años) los coeficientes de correlación para β -criptoxantina ($r=0.32$), licopeno ($r=0.42$) y luteína ($r=0.16$) fueron muy similares a los encontrados en nuestro estudio ($r=0.35$, $r=0.28$ and $r=0.10$ respectivamente) (Burrows et al., 2009). Cuando los análisis de validación se estratificaron por índice de masa corporal (BMI) los coeficientes de correlación para luteína + zeaxantina y β -criptoxantina fueron mayores para los niños con sobrepeso u obesidad, para vitamina E y licopeno fueron más altas para los niños en normo-peso. Esto puede deberse a que la vitamina E y el licopeno se distribuyen de diferente manera entre la sangre y el tejido adiposo, así los individuos con mayor cantidad de grasa corporal (mayor BMI) tendrían en consecuencia una menor cantidad de estos nutrientes circulantes dando como consecuencia menores coeficientes de correlación (Burrows et al., 2009; Vioque et al., 2007).

CFA de 84 ítems En Estudiantes Universitarios

Los resultados de validación del CFA de 84 ítems indican que es un buen método para evaluar la dieta en adultos jóvenes. El CFA muestra un buen grado de reproducibilidad para las estimaciones de alimentos y nutrientes y una aceptable validez al comparar las estimaciones del CFA con las de varios 24HR y niveles séricos de BM. A nuestro conocimiento este es el primer estudio donde se valida un CFA en una población de adultos jóvenes pertenecientes al área mediterránea.

Reproducibilidad

La reproducibilidad se evaluó a lo largo de un año, de esta forma se tuvo en cuenta la variabilidad estacional en el consumo de alimentos. Las diferentes agrupaciones de los alimentos para conformar los grupos de alimentos y el diferente lapso de tiempo tenido en cuenta en los distintos estudios hacen difícil la comparabilidad con otros estudios, un estudio en adultos jóvenes en Australia mostró mejores coeficientes de correlación para la reproducibilidad de nutrientes debido a que el tiempo entre CFA fue de 1 semana (Hebden et al., 2013). En general los coeficientes de reproducibilidad fueron similares a los encontrados en estudios de validación en otras poblaciones donde se evaluaba la reproducibilidad a lo largo de un año (de la Fuente-Arrillaga et al., 2010; Rodríguez et al., 2008; Selem et al., 2014).

Validez

La validez del CFA de 84 ítems se evaluó comparando sus estimaciones con las estimaciones medias de varios 24HR y BM. En este estudio utilizamos un número variable de

recordatorios por individuo, así cada participante en el estudio de validación completó entre 3 24HR y 9 24HR. En general, los coeficientes de correlación para la validez frente a 24HR fueron muy similares a los encontrados en la bibliografía (Fregapane et al., 2000; Rockett et al., 1997; Rodríguez et al., 2008). En España existe un estudio de validación de un CFA en estudiantes universitarios donde la validación se evalúa frente a 3 24HR, los r en este estudio fueron similares pero menores que en nuestro estudio, pensamos que esta diferencia se debe a que se utilizó un CFA extenso con 5 opciones de raciones en el CFA lo que pudo dar lugar a una sobrestimación de algunos alimentos y por tanto a la ingesta de nutrientes (Aguirre-Jaime et al., 2008). Encontramos coeficientes de correlación bajos para la vitamina B12 ($r = 0.10$, $p < 0.05$) lo que coincide con un estudio de validación similar en población española (Rivas et al., 2009). También encontramos un bajo coeficiente de reproducibilidad para retinol ($r=0.12$, $p>0.05$) lo que coincide con un estudio español donde el r para retinol también resultó bajo ($r=0.158$, $p>0.05$) (Rodríguez et al., 2008).

La validez también se evaluó frente a BM, y los coeficientes de correlación son muy similares a los encontrados en estudios donde se utiliza como *gold standard* BM (Jackson et al., 2011; Johansson et al., 2002; Signorello et al., 2010; Vioque et al., 2007). Encontramos coeficientes de correlación bajos para retinol y vitamina E que coincide con los resultados obtenidos en otros estudio de validación en población general (Signorello et al., 2010; Vioque et al., 2007) y con los resultados de los estudios que conforman esta tesis. Al realizar los análisis según el BMI los r para los individuos en normo peso mejoraron (excepto para retinol que permaneció prácticamente igual) de igual forma al realizar los análisis de validación según estación del años los r mejoraron para los muestras de sangre tomadas en otoño e invierno, pensamos que se debe al consumo estacional de ciertos alimentos ricos en carotenoides.

Consideraciones finales

En esta tesis hemos presentado los resultados de 3 estudios de validación de CFA con una misma estructura y en tres poblaciones con características diferenciadas lo que ha supuesto un desafío por distintos debido a la diversidad de las poblaciones diana: mujeres embarazadas cuya dieta cambia en un periodo corto de tiempo, niños a la edad de 4-5 años en un momento en los que se producen un crecimiento rápido y cambios en la dieta y una población de adultos jóvenes universitarios. Como se ha puesto de manifiesto, a pesar de ser poblaciones heterogéneas, hemos obteniendo aceptables a buenos coeficientes de correlación para la reproducibilidad y para la validez de los tres CFA, similares a los obtenidos en otros estudios de validación con otras poblaciones mas homogéneas y con un mayor nivel de formación e implicación (enfermeras norteamericanas).

En general, los estudios de validación que utilizan registros dietéticos como método de referencia obtienen mejores resultados de validación (Bertoli et al., 2005; Fernández-Ballart et

al., 2010; Fregapane and Asensio-García, 2000; Friis et al., 1997; McNaughton et al., 2005; Pinto et al., 2010; Uenishi et al., 2008; Willett et al., 1985), sin embargo, el uso de registros de dieta como método de referencia puede reflejar de forma más precisa el consumo de alimentos pero dado su alto coste y las características de las poblaciones utilizadas en nuestros tres estudios, y escasos recursos y tiempo disponible para realizar la validación, no pudimos utilizarlos, usando en su lugar el 24HR con los que hemos podido obtener de aceptables a buenos coeficientes de validez.

Los coeficientes de correlación observados entre las estimaciones dietéticas y los niveles plasmáticos para algunos carotenoides, vitamina E y retinol resultaron más bajos que los observados cuando se compararon con los 24HR en los tres estudios aunque la mayoría resultaron estadísticamente significativos. Las razones pueden ser múltiples, desde las condiciones antropométricas de las poblaciones utilizadas (ej. Mujeres embarazadas), al marco referencial de los niveles plasmáticos frente a las ingestas habituales que abarcan periodos más amplios, o incluso el que las correlaciones pueden estar influenciados por el índice de masa corporal como se ha puesto de manifiesto en algunos estudios (Vioque et al., 2007). En algunos casos, cuando se controló por la estación del año en la cual se extrajeron las muestras de sangre o cuando se estratificó por ellas, algunas correlaciones mejoraron ostensiblemente. Por otra parte, el uso de dos métodos de referencia para validar los CFA (24HRy niveles plasmáticos de BM) ha supuesto un doble desafío y un coste más elevado pero un valor añadido de cara a mejorar el proceso de validación y demostrar la fiabilidad de los CFA como métodos de evaluación dietética incluso en poblaciones con características cambiantes como las incluidas en nuestros estudios. De acuerdo a los resultados de la tabla 13, donde se presentan las medias de los coeficientes de correlación de reproducibilidad y validez, podemos concluir los tres CFA presentan con una aceptable a buena capacidad para evaluar la dieta habitual en el pasado en embarazadas, niños y adultos jóvenes, y clasificar a los individuos según su nivel de ingesta dietética para facilitar el estudio de relaciones dieta-enfermedad. Una prueba adicional de la utilidad de estos CFAs, y en concreto del primero de ellos tras su publicación, es que han sido utilizado por autores externos en sus estudios tras autorización por nuestra parte, y por el reconocimiento del primer trabajo en la literatura ya que en el corto periodo de tiempo desde su publicación en 2013, ha acumulado un total de 31 citas en SCOPUS (a fecha de abril de 2016).

Tabla13. Media de los coeficientes de correlación de Pearson para cada uno de los estudios de validación

	101 ítems^a	105 ítems^a	84 ítems^a
CFA1 vs CFA2 (nutrientes)	0.51/0.43 ^b	0.41/0.42 ^b	0.53/0.52 ^b
CFA1 vs CFA2 (alimentos)	0.41/0.37 ^b	0.43/0.44 ^b	0.54/0.52 ^b
CFAav vs 24HRav	--	0.30/0.30 ^b /0.44 ^e	0.41/0.42 ^b
CFA1 vs BM	0.19/0.21 ^{bcd}	0.21/0.22 ^{bd}	0.29/0.29 ^{bd}

^aNutrientes logaritmizados; ^b nutrientes ajustados por calorías; ^c dieta + suplementos; ^d

Nutrientes ajustados por colesterol; ^e deatenuados. CFAav media de CFA1 y CFA2.

24HRav media de los recordatorios de 24 horas.





10. CONCLUSIONES

1. El CFA de 101 ítems de embarazadas es una herramienta adecuada para evaluar la ingesta de nutrientes y grupos de alimentos durante el embarazo ya que muestra buenos índices de reproducibilidad cuando comparamos sus resultados en 2 puntos de tiempo.
2. El CFA de 101 ítems de embarazadas es válido para clasificar a las mujeres embarazadas por su ingesta dietética como se evidencia al comparar las estimaciones del CFA con los niveles de BM. Dicha validez mejora notablemente al tener en cuenta el uso de suplementos dietéticos durante el embarazo.
3. El CFA de 105 ítems para niños de 4-5 años es una herramienta reproducible para estimar la ingesta dietética en niños de 4 años como se evidencia por los buenos coeficientes de correlación cuando se comparan las estimaciones del CFA para la ingesta de nutrientes y grupos de alimentos en dos puntos de tiempo.
4. El CFA de 105 ítems es una herramienta válida para evaluar la dieta en niños de 4-5 años según muestran los aceptablemente buenos coeficientes de correlación cuando se compararon sus estimaciones con las estimaciones de varios 24HR, correlaciones que mejoraron cuando se redujo la variabilidad intraindividual cuando se usaron coeficientes de atenuación.
5. El CFA de 105 ítems para niños de 4-5 años muestra también una aceptable validez bioquímica como lo demuestra los coeficientes de correlación aceptables obtenidos al comparar las estimaciones del CFA con los obtenidos por BM.
6. El CFA de 84 ítems utilizado en jóvenes adultos es una herramienta reproducible para evaluar dieta de acuerdo a los buenos coeficientes de correlación observados al comparar las estimaciones para grupos de alimentos y nutrientes.
7. El CFA de 84 ítems utilizado en jóvenes adultos es un método válido para evaluar la dieta en jóvenes de acuerdo a las aceptables y buenas correlaciones observadas entre el CFA y las estimaciones de ingestas de nutrientes obtenidas por varios 24HR y BM.
8. El ajuste de las correlaciones por algunas variables de los participantes, como por ejemplo el índice de masa corporal o la estación del año cuando se tomaron las muestras biológicas para medir concentraciones plasmáticas de nutrientes, mejoraron algo las correlaciones observadas aunque no modificaron sustancialmente las conclusiones respecto a la validez de los CFAs.
9. A partir de los resultados observados para los tres CFA podemos concluir que resulta un método de evaluación dietética muy conveniente para medir de forma fiable la dieta en estudios epidemiológicos con poblaciones humanas.

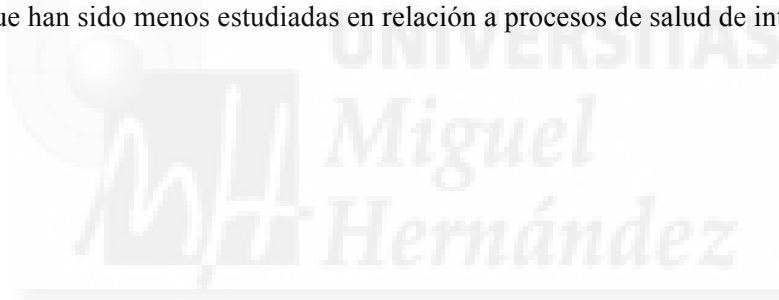


11. IMPLICACIONES PARA LA SALUD PÚBLICA

A partir de los resultados y conclusiones obtenidos en la presente tesis doctoral creemos que los Cuestionarios de Frecuencia Alimentaria que hemos validado son instrumentos muy útiles para utilizar en estudios epidemiológicos interesados en evaluar el papel de la dieta en relación con el estado de salud (Encuestas de Nutrición y Salud), o en relación a la presencia de enfermedad (Estudios etiológicos de tipo observacional o de intervención).

Una vez validados, los CFA permiten clasificar a las personas por su nivel de ingesta y establecer posibles asociaciones con el riesgo de desarrollar una determinada enfermedad en estudio. Asimismo, su facilidad de uso y su gran coste-eficiencia lo hacen muy recomendables en la mayoría de situaciones donde otros métodos pueden suponer una gran carga e imprecisión a la hora de clasificar a los individuos por sus niveles de ingesta.

El valor añadido de esta tesis es que ha puesto en evidencia que estos instrumentos son posible utilizar en poblaciones con muy diversas características como son la mujeres embarazadas, los niños de 4-5 años de edad y adultos jóvenes, poblaciones para las que existen menos CFA validados y que han sido menos estudiadas en relación a procesos de salud de interés.





12. BIBLIOGRAFIA

Aguirre-Jaime A , Cabrera de León A , Domínguez S, Borges C, Carrillo L, Gavilán J, Rodríguez MDC, Almeida D. Validation of a food intake frequency questionnaire adapted for the study and monitoring of the adult population of the Canary Islands, Spain. *Rev Esp Salud Pública*. 2008; 82: 509–518.

Alcubierre N, Valls J, Rubinat E, Cao G, Esquerda A, Traveset A, Granado-Casas M, Jurjo C, Mauricio D. Vitamin D Deficiency Is Associated with the Presence and Severity of Diabetic Retinopathy in Type 2 Diabetes Mellitus. *J. Diabetes Res*. 2015; 374178.

Augood, C.A., Vingerling, J.R., de Jong, P.T.V.M., Chakravarthy, U., Seland, J., Soubrane, G., Tomazzoli, L., Topouzis, F., Bentham, G., Rahu, M., Vioque, J., Young, I.S., Fletcher, A.E. Prevalence of age-related maculopathy in older Europeans: the European Eye Study (EUREYE). *Arch. Ophthalmol*. 2006; 124: 529–535.

Bertoli, S., Petroni, M.L., Pagliato, E., Mora, S., Weber, G., Chiumello, G., Testolin, G. Validation of food frequency questionnaire for assessing dietary macronutrients and calcium intake in Italian children and adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005; 40: 555–560.

Block, G., Hartman, A.M., Dresser, C.M., Carroll, M.D., Gannon, J., Gardner, L. A data-based approach to diet questionnaire design and testing. *Am. J. Epidemiol*. 1986; 124: 453–469.

Blum, R.E., Wei, E.K., Rockett, H.R., Langeliers, J.D., Leppert, J., Gardner, J.D., Colditz, G.A. Validation of a food frequency questionnaire in Native American and Caucasian children 1 to 5 years of age. *Matern. Child Health J*. 1999; 3: 167-72.

Brantsaeter, A.L., Haugen, M., Hagve, T.-A., Aksnes, L., Rasmussen, S.E., Julshamn, K., Alexander, J., Meltzer, H.M. Self-reported dietary supplement use is confirmed by biological markers in the Norwegian Mother and Child Cohort Study (MoBa). *Ann Nutr Metab*. 2007; 51: 146–154.

Burke B, B.B. The dietary history as a tool in research. *J Am Diet Assoc*. 1947; 23: 1041–1046.

Burrows, T.L., Warren, J.M., Colyvas, K., Garg, M.L., Collins, C.E. Validation of Overweight Children's Fruit and Vegetable Intake Using Plasma Carotenoids. *Obesity*. 2009; 17: 162-8.

Cabrera de León A, Rodríguez MC, Almeida D, Domínguez S, Aguirre-Jaime A, Brito B, González A, Pérez L, grupo CDC. Presentation of the "CDC de Canarias" cohort: objectives, design and preliminary results. *Rev Esp Salud Publica*. 2008; 82: 519-34.

Cade, J., Thompson, R., Burley, V., Warm, D. Development, validation and utilisation of food-

frequency questionnaires - a review. *Public Health Nutr.* 2002; 5: 567–87.

Cade, J.E., Burley, V.J., Warm, D.L., Thompson, R.L., Margetts, B.M. Food-frequency questionnaires: a review of their design, validation and utilisation. *Nutr Res Rev.* 2004; 17: 5–22.

Castelló, A., Martín, M., Ruiz, A., Casas, A.M., Baena-Cañada, J.M., Lope, V., Antolín, S., Sánchez, P., Ramos, M., Antón, A., Muñoz, M., Bermejo, B., De Juan-Ferré, A., Jara, C., Chacón, J.I., Jimeno, M.A., Rosado, P., Díaz, E., Guillem, V., Lluch, A., Carrasco, E., Pérez-Gómez, B., Vioque, J., Pollán, M., EpiGEICAM Researchers. Lower Breast Cancer Risk among Women following the World Cancer Research Fund and American Institute for Cancer Research Lifestyle Recommendations: EpiGEICAM Case-Control Study. *PloS One.* 2015; 10: e0126096.

De Keyzer, W., Dekkers, A., Van Vlaslaer, V., Ottevaere, C., Van Oyen, H., De Henauw, S., Huybrechts, I. Relative validity of a short qualitative food frequency questionnaire for use in food consumption surveys. *Eur. J. Public Health.* 2013; 23: 737–742.

de la Fuente-Arrillaga, C., Ruiz, Z.V., Bes-Rastrollo, M., Sampson, L., Martínez-González, M.A. Reproducibility of an FFQ validated in Spain. *Public Health Nutr.* 2010; 13: 1364–1372.

Deschamps, V., de Lauzon-Guillain, B., Lafay, L., Borys, J.-M., Charles, M.A., Romon, M. Reproducibility and relative validity of a food-frequency questionnaire among French adults and adolescents. *Eur J Clin Nutr.* 2009; 63: 282–291.

Erkkola, M., Karppinen, M., Javanainen, J., Räsänen, L., Knip, M., Virtanen, S.M. Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire for pregnant Finnish women. *Am J Epidemiol.* 2001; 154: 466–476.

Estruch, R., Ros, E., Salas-Salvadó, J., Covas, M.-I., Corella, D., Arós, F., Gómez-Gracia, E., Ruiz-Gutiérrez, V., Fiol, M., Lapetra, J., Lamuela-Raventos, R.M., Serra-Majem, L., Pintó, X., Basora, J., Muñoz, M.A., Sorlí, J.V., Martínez, J.A., Martínez-González, M.A., PREDIMED Study Investigators. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med.* 2013; 368: 1279–1290.

Fernández-Ballart, J.D., Piñol, J.L., Zazpe, I., Corella, D., Carrasco, P., Toledo, E., Perez-Bauer, M., Martínez-González, M.A., Salas-Salvadó, J., Martín-Moreno, J.M. Relative validity of a semi-quantitative food-frequency questionnaire in an elderly Mediterranean population of Spain. *Br J Nutr.* 2010; 103: 1808–1816.

Field, A.E., Peterson, K.E., Gortmaker, S.L., Cheung, L., Rockett, H., Fox, M.K., Colditz, G.A. Reproducibility and validity of a food frequency questionnaire among fourth to seventh grade

inner-city school children: implications of age and day-to-day variation in dietary intake. *Public Health Nutr.* 1999; 2: 293-300.

Fregapane, G., Asensio-García, C. Dietary assessment of an educated young Spanish population using a self-administered meal-based food frequency questionnaire. *Eur. J. Epidemiol.* 2000; 16: 183–191.

Friis, S., Kruger Kjaer, S., Stripp, C., Overvad, K. Reproducibility and relative validity of a self-administered semiquantitative food frequency questionnaire applied to younger women. *J Clin Epidemiol.* 1997; 50: 303–311.

Guxens, M., Ballester, F., Espada, M., Fernández, M.F., Grimalt, J.O., Ibarluzea, J., Olea, N., Rebagliato, M., Tardón, A., Torrent, M., Vioque, J., Vrijheid, M., Sunyer, J., Project, on behalf of I. Cohort Profile: The INMA--Infancia y Medio Ambiente--(Environment and Childhood) Project. *Int J Epidemiol.* 2012; 41: 930-40.

Hebden, L., Kostan, E., O’Leary, F., Hodge, A., Allman-Farinelli, M. Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire as a measure of recent dietary intake in young adults. *PloS One.* 2013; 8: e75156.

Henríquez-Sánchez, P., Sánchez-Villegas, A., Doreste-Alonso, J., Ortiz-Andrellucchi, A., Pfrimer, K., Serra-Majem, L. Dietary assessment methods for micronutrient intake: a systematic review on vitamins. *Br J Nutr.* 2009; 102 Suppl 1: S10-37.

Jackson, M.D., Walker, S.P., Younger, N.M., Bennett, F.I. Use of a food frequency questionnaire to assess diets of Jamaican adults: validation and correlation with biomarkers. *Nutr J.* 2011; 10: 28.

Jenab, M., Slimani, N., Bictash, M., Ferrari, P., Bingham, S.A. Biomarkers in nutritional epidemiology: applications, needs and new horizons. *Hum Genet.* 2009; 125: 507–525.

Johansson, I., Hallmans, G., Wikman, A., Biessy, C., Riboli, E., Kaaks, R., 2002. Validation and calibration of food-frequency questionnaire measurements in the Northern Sweden Health and Disease cohort. *Public Health Nutr.* 2002; 5: 487–496.

Julvez, J., Méndez, M., Fernandez-Barres, S., Romaguera, D., Vioque, J., Llop, S., Ibarluzea, J., Guxens, M., Avella-Garcia, C., Tardón, A., Riaño, I., Andiaarena, A., Robinson, O., Arija, V., Esnaola, M., Ballester, F., Sunyer, J. Maternal Consumption of Seafood in Pregnancy and Child Neuropsychological Development: A Longitudinal Study Based on a Population With High Consumption Levels. *Am J Epidemiol.* 2016; 183: 169–182.

- Kelemen, L.E. GI Epidemiology: nutritional epidemiology. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007; 25: 401–407.
- Klohe, D.M., Clarke, K.K., George, G.C., Milani, T., Hanss-Nuss, H., Freeland-Graves, J.H. Relative validity and reliability of a food frequency questionnaire for a triethnic population of 1-3 year old children from low-income families. *J Am Diet Assoc.* 2005; 105: 727-34.
- Kobayashi, T., Kamimura, M., Imai, S., Toji, C., Okamoto, N., Fukui, M., Date, C. Reproducibility and validity of the food frequency questionnaire for estimating habitual dietary intake in children and adolescents. *Nutr. J.* 2011; 10: 27.
- Loy, S.L., Marhazlina, M., Nor, A.Y., Hamid, J.J.M., 2011. Development, validity and reproducibility of a food frequency questionnaire in pregnancy for the Universiti Sains Malaysia birth cohort study. *Malays. J Nutr.* 2011; 17: 1–18.
- Macedo-Ojeda, G., Vizmanos-Lamotte, B., Márquez-Sandoval, Y.F., Rodríguez-Rocha, N.P., López-Uriarte, P.J., Fernández-Ballart, J.D. Validation of a semi-quantitative food frequency questionnaire to assess food groups and nutrient intake. *Nutr Hosp.* 2013; 28: 2212–2220.
- Martínez-González, M.Á., Corella, D., Salas-Salvadó, J., Ros, E., Covas, M.I., Fiol, M., Wärnberg, J., Arós, F., Ruíz-Gutiérrez, V., Lamuela-Raventós, R.M., Lapetra, J., Muñoz, M.Á., Martínez, J.A., Sáez, G., Serra-Majem, L., Pintó, X., Mitjavila, M.T., Tur, J.A., Portillo, M.D.P., Estruch, R., PREDIMED Study Investigators. Cohort profile: design and methods of the PREDIMED study. *Int J Epidemiol.* 2012; 41: 377–385.
- Martin-Moreno, J.M., Boyle, P., Gorgojo, L., Maisonneuve, P., Fernandez-Rodriguez, J.C., Salvini, S., Willett, W.C. Development and validation of a food frequency questionnaire in Spain. *Int J Epidemiol.* 1993; 22: 512–519.
- Masson, L.F., McNeill, G., Tomany, J.O., Simpson, J.A., Peace, H.S., Wei, L., Grubb, D.A., Bolton-Smith, C. Statistical approaches for assessing the relative validity of a food-frequency questionnaire: use of correlation coefficients and the kappa statistic. *Public Health Nutr.* 2003; 6: 313–321.
- McNaughton, S.A., Marks, G.C., Gaffney, P., Williams, G., Green, A. Validation of a food-frequency questionnaire assessment of carotenoid and vitamin E intake using weighed food records and plasma biomarkers: the method of triads model. *Eur J Clin Nutr.* 2005; 59: 211–218.
- Miller, A.B., Altenburg, H.-P., Bueno-de-Mesquita, B., Boshuizen, H.C., Agudo, A., Berrino, F., Gram, I.T., Janson, L., Linseisen, J., Overvad, K., Rasmuson, T., Vineis, P., Lukanova, A., Allen, N., Amiano, P., Barricarte, A., Berglund, G., Boeing, H., Clavel-Chapelon, F., Day, N.E.,

- Hallmans, G., Lund, E., Martinez, C., Navarro, C., Palli, D., Panico, S., Peeters, P.H.M., Quirós, J.R., Tjønneland, A., Tumino, R., Trichopoulou, A., Trichopoulos, D., Slimani, N., Riboli, E., Palli, D. Fruits and vegetables and lung cancer: Findings from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int J Cancer J.* 2004; 108: 269–276.
- Navarrete-Muñoz, E.M., Valera-Gran, D., Gonzalez-Palacios, S., Hera, M.G. de la, Gimenez-Monzo, D., Torres-Collado, L., Vioque, J. El Estudio DiSA-UMH: Estudio de cohorte prospectivo en estudiantes de ciencias de la salud de la Universidad Miguel Hernández. *Rev Esp Nutr Humana Dietética.* 2015; 20: 69–76.
- Nichols, A.B., Ravenscroft, C., Lamphiear, D.E., Ostrander, L.D. Independence of serum lipid levels and dietary habits. The Tecumseh study. *JAMA.* 1976; 236: 1948–1953.
- Ortiz-Andrellucchi, A., Henriquez-Sanchez, P., Sanchez-Villegas, A., Pena-Quintana, L., Mendez, M., Serra-Majem, L. Dietary assessment methods for micronutrient intake in infants, children and adolescents: a systematic review. *Br J Nutr.* 2009; 102 Suppl 1: S87-117.
- Palma I, F. A., Cantós. Tablas de composición de Alimentos por medidas caseras de consumo habitual en España. CESNID. MADRID. Mc Graw Hill. Interamericana. 2008.
- Parrish, L.A., Marshall, J.A., Krebs, N.F., Rewers, M., Norris, J.M. Validation of a food frequency questionnaire in preschool children. *Epidemiology.* 2003; 14: 213-7.
- Pereira, R.A., Araujo, M.C., Lopes, T. de S., Yokoo, E.M. How many 24-hour recalls or food records are required to estimate usual energy and nutrient intake?. *Cad Saúde Pública.* 2010; 26: 2101–2111.
- Pinto, E., Severo, M., Correia, S., dos Santos Silva, I., Lopes, C., Barros, H. Validity and reproducibility of a semi-quantitative food frequency questionnaire for use among Portuguese pregnant women. *Matern Child Nutr.* 2010; 6: 105–119.
- Preston, A.M., Palacios, C., Rodriguez, C.A., Velez-Rodriguez, R.M. Validation and Reproducibility of a Semi-Quantitative Food Frequency Questionnaire for Use in Puerto Rican Children. *P R Health Sci J.* 2011; 30: 58-64.
- Prieto, L., Lamarca, R., Casado, A. Assessment of the reliability of clinical findings: the intraclass correlation coefficient. *Med. Clínica.* 1998; 110: 142–145.
- Ramos, M., Cabrera F., Pérez, Y., Cabrera, J., Yedra, M., Sánchez, A. Validation of a questionnaire of lycopene frequency intake. *Nutr. Hosp.* 2012; 27: 1320–1327.
- Rivas, A., Romero, A., Mariscal, M., Monteagudo, C., Hernández, J., Olea-Serrano, F. Validation of questionnaires for the study of food habits and bone mass. *Nutr. Hosp.* 2009; 24:

521–528.

Rockett, H.R.H., Breitenbach, M., Frazier, A.L., Witschi, J., Wolf, A.M., Field, A.E., Colditz, G.A. Validation of a youth/adolescent food frequency questionnaire. *Prev. Med.* 1997; 26: 808–816.

Rodríguez, I.T., Ballart, J.F., Pastor, G.C., Jordà, E.B., Val, V.A. Validation of a short questionnaire on frequency of dietary intake: reproducibility and validity. *Nutr Hosp.* 2008; 23: 242–252.

Sahashi, Y., Tsuji, M., Wada, K., Tamai, Y., Nakamura, K., Nagata, C. Validity and Reproducibility of Food Frequency Questionnaire in Japanese Children Aged 6 Years. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2011; 57: 372-6.

Scaife, A.R., McNeill, G., Campbell, D.M., Martindale, S., Devereux, G., Seaton, A. Maternal intake of antioxidant vitamins in pregnancy in relation to maternal and fetal plasma levels at delivery. *Br J Nutr.* 2006; 95, 771–778.

Schröder H1, Covas MI, Marrugat J, Vila J, Pena A, Alcántara M, Masiá R. Use of a three-day estimated food record, a 72-hour recall and a food-frequency questionnaire for dietary assessment in a Mediterranean Spanish population. *Clin Nutr.* 2001; 20: 429-37.

Sedgwick, P. Limits of agreement (Bland-Altman method). *BMJ.* 2013; 346: f1630.

Selem, S.S. de C., Carvalho, A.M. de, Verly-Junior, E., Carlos, J.V., Teixeira, J.A., Marchioni, D.M.L., Fisberg, R.M. Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire for adults of São Paulo, Brazil. *Rev Bras Epidemiol.* 2014; 17: 852–859.

Sharma, S., Cao, X., Gittelsohn, J., Ho, L.S., Ford, E., Rosecrans, A., Harris, S., Hanley, A.J., Zinman, B. Dietary intake and development of a quantitative food-frequency questionnaire for a lifestyle intervention to reduce the risk of chronic diseases in Canadian First Nations in north-western Ontario. *Public Health Nutr.* 2008; 11: 831–840.

Signorello, L.B., Buchowski, M.S., Cai, Q., Munro, H.M., Hargreaves, M.K., Blot, W.J. Biochemical validation of food frequency questionnaire-estimated carotenoid, alpha-tocopherol, and folate intakes among African Americans and non-Hispanic Whites in the Southern Community Cohort Study. *Am J Epidemiol.* 2010; 171: 488–497.

Spencer, E.H., Elon, L.K., Hertzberg, V.S., Stein, A.D., Frank, E. Validation of a brief diet survey instrument among medical students. *J Am Diet Assoc.* 2005; 105: 802–806.

Stein, A.D., Shea, S., Basch, C.E., Contento, I.R., Zybert, P. Consistency of the Willett semiquantitative food frequency questionnaire and 24-hour dietary recalls in estimating nutrient

- intakes of preschool-children. *Am J Epidemiol.* 1992; 135: 667-77.
- Rodríguez IT, Ballart JF, Pastor GC, Jordà EB, Val VA. Validation of a short questionnaire on frequency of dietary intake: reproducibility and validity. *Nutr Hosp.* 2008; 23: 242-52.
- Uenishi, K., Ishida, H., Nakamura, K. Development of a simple food frequency questionnaire to estimate intakes of calcium and other nutrients for the prevention and management of osteoporosis. *J. Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 2008; 54: 25–29.
- U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 2010. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 23. Nutrient Data Laboratory Homepage, <http://www.ars.uda.gov/ba/bhnrc/ndl>.
- Vázquez C, Alonso R, Garriga M, de Cos A, de la Cruz JJ, Fuentes-Jiménez F, Salas-Salvadó J, Mata P. Validation of a food frequency questionnaire in Spanish patients with familial hypercholesterolaemia. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2012; 22 :836-42.
- Vioque, J. Validez de la evaluación de la ingesta dietética. In: *Nutrición y Salud Pública. Métodos, bases científicas y aplicaciones.*, (A. B. Serra Majem L, J ed.), pp 199-210: Masson-Elsevier, Barcelona. 2006.
- Vioque, J., Gonzalez, L. Validity of a food frequency questionnaire (preliminary results). *Eur J Cancer Prev.* 1991; 1: 19–20.
- Vioque J, Quiles J. Encuesta de Nutrición y Salud de la Comunidad Valenciana. Alicante, Universidad Miguel Hernández, 2003. (ISBN: 84-607-9740-6) <http://bibliodieta.umh.es/files/2012/07/Libro-Encuesta-Nutricion-y-Salud-CV.pdf> acceso abril 2016)
- Vioque, J., Weinbrenner, T., Asensio, L., Castelló, A., Young, I.S., Fletcher, A. Plasma concentrations of carotenoids and vitamin C are better correlated with dietary intake in normal weight than overweight and obese elderly subjects. *Br J Nutr.* 2007; 97: 977–986.
- Vioque, J., Weinbrenner, T., Castello, A., Asensio, L., de la Hera, M.G. Intake of fruits and vegetables in relation to 10-year weight gain among Spanish adults. *Obesity.* 2008; 16: 664-70.
- Vioque J, Eva-María Navarrete-Muñoz, Daniel Gimenez-Monzó, Manuela García de la Hera, Fernando Granado, Ian S Young, Rosa Ramón, Ferran Ballester, Mario Murcia, Marisa Rebagliato, Carmen Iñiguez and INMA-Valencia Cohort Study. Reproducibility and validity of a food frequency questionnaire among pregnant women in a Mediterranean area. *Nutrition Journal.* 2013; 12: 26.
- Watson, J.F., Collins, C.E., Sibbritt, D.W., Dibley, M.J., Garg, M.L. Reproducibility and

comparative validity of a food frequency questionnaire for Australian children and adolescents. *Int J Behav Nutr Phys.* 2009; 11: 6-62.

Willett, W. *Nutritional Epidemiology* (2nd edition). Oxford University Press. New York. 1998.

Willett, W.C., Sampson, L., Stampfer, M.J., Rosner, B., Bain, C., Witschi, J., Hennekens, C.H., Speizer, F.E. Reproducibility and validity of a semiquantitative food frequency questionnaire. *Am J Epidemiol.* 1985; 122: 51–65.

Willett, W.C., Stampfer, M.J., Manson, J.E., Colditz, G.A., Speizer, F.E., Rosner, B.A., Sampson, L.A., Hennekens, C.H. Intake of trans fatty acids and risk of coronary heart disease among women. *Lancet.* 1993; 341; 581–585.



ANEXO I

Reproducibility and validity of a Food Frequency Questionnaire to assess diet in children aged 4-5 years.

Running Foot: Validity of a FFQ in childhood

Jesús Vioque, 1, 2 MD, MPH, PhD Daniel Gimenez-Monzo, 1, 2 MPH, Eva Maria Navarrete-Muñoz, 1, 2 BSc, MPH, PhD, Sandra Gonzalez-Palacios, 1, 2 MPH, Manuela García de la Hera, 1, 2 BSc, MPH, PhD, for the INMA-Valencia Cohort Study.*

1 Departamento Salud Pública, Historia de la Ciencia y Ginecología. Universidad Miguel Hernández, Alicante, Spain

2 CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Spain



Corresponding author: Jesús Vioque. Departamento Salud Pública, H^a Ciencia y Ginecología. Universidad Miguel Hernández. Ctra. Nacional 332 s/n 03550-San Juan de Alicante. Spain. Phone: 34-965919517. Fax: 34 96 5919551. vioque@umh.es

* *Members of the INMA Valencia Cohort Study:* Jesús Vioque, Eva-María Navarrete-Muñoz, Daniel Gimenez-Monzó, Manuela García de la Hera, Marisa Rebagliato, Ferran Ballester, Mario Murcia, Carmen Iñiguez, Rosa Ramón, Rosa Ramón, Ana Esplugues, Clara Rodríguez-Bernal, Alfredo Marco, Sabrina Llop, Marisa Estarlich, Amparo Cases

Acknowledgements: Supported by Instituto Salud Carlos III (Red INMA G03/176 CB06/02/0041), Ministerio Sanidad y Fondos FEDER (FIS 03/1615; 04/1509; 04/1436; 05/1079; 06/1213; 06/0867; 07/0314; 11/01007), Conselleria Sanitat, Generalitat Valenciana (ACOMP/2010/115; 084/2010). We would like to appreciate the English revision made by Mr. Jonathan Whitehead

Abstract

Background: The food frequency questionnaire (FFQ) is the most efficient and cost-effective method to investigate the relationship between usual diet and disease in epidemiologic studies. Although FFQs have been validated in many adult populations worldwide, the number of valid FFQ in children is very scarce. The aim of this study was to evaluate the reproducibility and validity of a semi-quantitative FFQ designed for children aged 4 to 5 years.

Methods: Participants were 169 children 4-5 years old from a population-based prospective cohort study of mothers and children in Spain (The INMA Study). The 105-items FFQ was administered twice to the parents or caregivers of children in a 6 to 9 months' period. Reproducibility was explored by comparing energy-adjusted intake of nutrients by the FFQs, and validity, by comparing the nutrient values from the FFQs with the average nutrient values of three 24-hr Recalls (24hR) taken in the period, and also, with the concentration in blood specimens for several vitamins (carotenoids, folate, vitamin B12, vitamin C and α -tocopherol). Pearson correlation coefficients and de-attenuated correlation coefficients were calculated and we also evaluated misclassification by quintiles distribution.

Results: Significant correlation coefficients for reproducibility were found for all nutrients and major food groups; the average correlation coefficients for daily intake were 0.43 for food groups and 0.41 for nutrients. The average correlation coefficients for validity for daily intakes against 24hR was $r=0.30$, and the average for de-attenuated correlation coefficients was $r=0.44$. When evaluating validity against the blood concentration of vitamins, statistically significant correlations were observed for vitamin C (0.35), lycopene (0.31), β -Cryptoxantin (0.40), and vitamin E (0.29); the average of correlation coefficients was $r=0.21$.

Conclusion: This study supports that the FFQ has a good reproducibility for food and nutrient intake and acceptable validity for a wide range of food groups and nutrients in children aged 4-5 years.

Key words: diet, nutrient intake, food frequency questionnaire, childhood, validity

INTRODUCTION

Nutrition during childhood may further influence the health of the children later in life (Okasha et al. 2003; van der Pols et al. 2007). The ability to assess the role of a complex exposure such as child's diet during childhood requires valid instruments.

At present, food frequency questionnaires (FFQ) are the preferred dietary assessment method in most epidemiological studies mainly due to their low cost and ease of administration and, therefore, they have been validated in many different populations (J. Vioque and Gonzalez 1991). However, FFQ have been less often validated to assess diet during childhood, a period when many dietary changes occur due to the quick development and growth of the child.

When validating FFQ, the reference method should be as precise and accurate as possible and any errors due to the method should be independent of the other method.

The use of dietary records as gold standard is an extended practice but dietary records is a demanding method that requires the participant to be able to write down the foods and portions of foods consumed throughout the day and to have the motivation to complete the study (W. Willett 1998). On the other hand, 24-hour recalls (24HR) are able to be performed by trained interviewers which allow accurate estimate of actual dietary intake. Ideally, the use of biochemical markers for nutrient intake as reference method gives an independent measure of validity of the FFQ.

In this study, as part of the on-going research of the INMA Project, the aim of which was to investigate the role of environmental pollutants in air, water and diet during pregnancy and early childhood in relation to child growth and development (Ribas-Fito et al. 2006; Guxens et al. 2011), we evaluated the reproducibility of a 105 item FFQ in the diet assessment of children aged 4 to 5 years participating in the INMA study, and we evaluated its validity by comparing mean intakes derived from the FFQ with the average nutrient values derived from the average of three 24HR, and the average blood levels of some biomarkers on nutrient intake (BM).

MATERIALS AND METHODS

Study population

Participants were 590 healthy children from a mother and child prospective cohort study in Valencia, a subproject of the INMA Project started in Spain in 2003. Details of the recruitment and follow-up have been described previously (Ribas-Fito et al. 2006; Guxens et al. 2011). At the baseline 590 were recruited, of them 169 were included in the validation study. The parents of participant children completed two food frequency questionnaires separated by approximately 6 months, three 24HR during this period and n=165 children provided a blood

sample at the baseline. All children's parents gave informed consent. The study protocol was approved by the Hospital Ethics Committee.

Covariates

Information on sociodemographic factors, anthropometric measures and others variables were obtained from a questionnaire administered to parents about their children. Body Mass Index (BMI) of the children was calculated by dividing the measured weight in kg by the square of the measured height in meters. BMI was further classified following the Cole criteria (Cole et al. 2000). The socioeconomic status of parents or caregivers was defined in 3 categories according to the Spanish adaptation of the British classification system (I+II, III, IV+V) (Domingo-Salvany et al. 2000). Education level of the parents was defined as "Primary school", "Secondary school" and "University". The use of lunchroom was defined in two categories: "one or less per week" and "once or more per week". Country of origin was defined by "Spain" and "Others".

Dietary assessment: Semiquantitative Food Frequency Questionnaire.

We used a semi-quantitative FFQ of 105 food items to assess the usual daily intake of foods and nutrients (available at: <http://bibliodieta.umh.es/files/2011/07/CFA105.pdf>). The FFQ was a modified version from a previous FFQ based on the Harvard questionnaire (W. C. Willett et al. 1985), which we developed and validated using four 1-week dietary records in an adult population in Valencia. The validity and reproducibility correlation coefficients (adjusted for energy intake) ranged from 0.38 for reproducibility of carotenoids to 0.44 for validity of vitamin C (Jesus Vioque et al. 2007; J. Vioque and Gonzalez 1991); this is a similar range to other established diet questionnaires (Henriquez-Sanchez et al. 2009; Henriquez-Sanchez et al. 2009). For the dietary assessment of children in the INMA cohort study, we added additional food items in the FFQ in order to capture the major sources of the most relevant nutrients, including specific carotenoids.

Parents or caregivers of children in the study were asked on a personal interview twice during six months how often, on average, their children had consumed each food item of the FFQ in the previous year. Serving sizes were specified for each food item in the FFQ. The questionnaire had nine possible responses, ranging from 'never or less than once per month' to 'six or more per day'.

Nutrient values were primarily obtained from the food composition tables of the US Department of Agriculture publications as well as other published sources for Spanish foods and portion sizes (Palma, Farran, and Cantos 2008; USDA 2010). In order to obtain average daily nutrient intakes from diet for each individual, we multiplied the frequency of use for each food by the

nutrient composition of the portion/serving size specified on the FFQ and added the results across all foods.

24 hour recall

Parents or caregivers of the children completed three 24HR during six months by personal interview. The first 24HR coincided with the administration of the first FFQ (FFQ1), the second 24HR coincided with the blood extraction and the third one was performed by telephone interview two or three months after the second one and coinciding with the second administration of the FFQ (FFQ2). In general, two recalls were taken on weekdays and one recall on a weekend to capture differences in eating habits.

The interviewer requested caregivers to recall all food and drink that children had consumed over the previous 24 hours. Portions were carefully estimated by using household measures and detailed description of the food, method of preparation and brands. We converted the data collected in units of weight and volume using published sources for foods (Palma, Farran, and Cantos 2008). The dietary intakes obtained from the 24HR were calculated using commercial software based on tables of the US Department of Agriculture publications as well as other published sources for Spanish foods (Palma, Farran, and Cantos 2008; USDA 2010).

Biomarkers

Fasting blood samples were obtained from each child and analyzed in a central laboratory (Hospital Puerta de Hierro, Unidad de Vitaminas, Madrid). A thorough protocol was designed to collect, transport and measure the blood samples for vitamin C, E, retinol and carotenoids. Blood samples were separated by centrifugation and stored at -80° C. The blood samples for vitamin C determination were collected at clinical examination under subdued light, wrapped in tin foil, stabilized with meta-phosphoric acid and placed in insulated dry containers at 4°C to exclude light and, therefore, avoid vitamin C degradation. Blood samples packed in dry ice were shipped to the central laboratory by dedicated couriers. Samples were, filtered through 0.45 mm membranes (Type HA, Millipore, USA) and injected onto the HPLC. Chromatographic analysis was performed using a C18 μ Bondapak column (Waters, USA) and eluted with methanol (50%) and water (50%) containing acetic acid buffer and N-cetil-trimetil-ammonium bromide at a flow rate of 1 ml/min. Detection was performed by photodiode array detector set at 254 nm. Between-day variability was < 8% and quality control was contrasted by participating in the Vitamin C Quality Assurance Programme conducted by NIST (MD, USA).

Serum concentrations of lutein/zeaxanthin, β -Crytoxanthin, lycopene, a-carotene and b-carotene in addition to vitamin A (retinol) and E (a- and g-tocopherol) were simultaneously measured by ultra-fast-liquid chromatography (Granado-Lorencio et al. 2010). The short and long-term

precision and accuracy of the analytical method is verified periodically through our participation in the Fat-Soluble Quality Assurance Programme conducted by the National Institute of Standards and Technology (NIST; Gaithersburg, MD, USA) and the Vitamin D External Quality Assurance Survey (DEQAS; Charing Cross Hospital, London, UK).

Plasma cholesterol, which was measured to adjust carotenoid concentrations, and other serum biochemical and hematological parameters were carried out at the General Biochemistry and Hematology Laboratories of the hospital according to routine quality-controlled standard methods.

Statistical analysis

Data analyses were performed with R statistical software package (R project, 2011). We calculated means and standard deviations for total nutrient intakes and food consumption from the FFQ, from the mean values of three 24HR and the average blood level for some biomarkers. We used paired Student's test for means comparison of the individual daily nutrient intakes and food consumption reported in the two periods.

All nutrient and food group intakes were log-transformed prior to analysis to improve their normality. Energy-adjusted intakes were computed using the residual method, where each nutrient is regressed on total calories, and the population mean was then added back to the calculated residuals (W. C. Willett et al. 1985).

Since most carotenoids are transported in plasma lipoproteins, plasma concentrations of carotenoids and vitamin E were also adjusted per plasma cholesterol concentrations using the residual method.

To assess the reproducibility of the FFQ, we estimated Pearson correlations coefficients to compare the individual energy-adjusted dietary intakes of nutrients and foods reported from FFQ1 and FFQ2. We explored validity of the FFQ by calculating the Pearson correlation coefficients between individual energy-adjusted dietary intakes from the average of FFQ1 and FFQ2 (FFQav) and the mean nutrients values derived from three 24HR. Because of day-to-day variance tends to attenuate the correlation between FFQ and 24HR, de-attenuated Pearson's correlation coefficients were calculated by adding the factor $\sqrt{1 + \{(S2w / S2b)/3\}}$ (24HR were repeated 3 times) to the calculated Pearson's correlation coefficient. In the formula, (S2w) represents within-pearson variance and (S2b) between-person variance for each nutrient. Pearson correlation coefficients were also used to evaluate the validity of the FFQ by comparing individual energy-adjusted dietary intakes from the FFQ1 and their respective plasma concentrations of the nutrients vitamin C, E, retinol and carotenoids (α - carotene, β - carotene, lutein + zeaxanthin, lycopene and β -cryptoxanthin). Spearman correlation coefficients were also

estimated although the results were very similar to those observed for parametric correlations. Therefore, only Pearson correlations are presented.

RESULTS

The main characteristics of the 590 children distinguished by participants and non-participants in the validation study were shown in the Table 1. The participants in the validation study were 4.3 years old, 20% were on overweight or obese, 51 % were female, 53% of the parents declared to have a socioeconomic status IV+V, and 41% an education level of “ Secondary School”. 70% of children were lunchroom users 1 or more times per week.

No significant differences were observed between the participants and non-participants in the validation study, with an exception of age. The energy and macronutrients were very similar between participants and non-participants at the baseline.

Mean daily intakes of nutrients and food groups based on the FFQs are presented in table 2. Except for total carbohydrates and alfa-carotene, intakes of energy and nutrients were slightly lower in the FFQ1, only lycopene was significant higher in the FFQ2 than in FFQ1.

The Pearson correlation coefficients for nutrients estimated by the two FFQ are also presented in table 2. Highly significant correlations were observed for most nutrients, ranging from $r=0.340$ for mono unsaturated fatty acids (MUFA) 1 to $r=0.64$ for beta-cryptoxanthin. The average of correlation coefficients was 0.41. According to classification into quintiles of nutrient intakes as estimated by the two FFQ, between 61.5% (dietary fiber) and 75.1% (beta-carotene) of children were classified in the same or adjacent quintile (Table 2). When the analysis was based on energy adjusted nutrient intakes, the magnitude of correlation coefficients didn't change.

Regarding food group intake, the mean intake for 3 groups estimated by the second FFQ were lower than the first FFQ (dairy products, eggs, vegetables, bread, potatoes, sweets and sugar) whereas fatty fish was significant higher than in the first FFQ (table 3). The correlation coefficients of food groups between the two FFQ were in general lower than those observed for nutrients, ranging from $r=0.16$ for whitemeat to $r=0.72$ for dairy products. The average correlation of absolute food group intakes between the two FFQ was $r=0.43$. The energy-adjusted correlations for food groups didn't improve. Regarding the intake of food groups, between 62.1% (fatty fish) and 99.4% (eggs) of children were classified in the same or adjacent quintiles by both FFQ.

Mean daily intakes of nutrients based on FFQav and the average of the three 24HR are presented in table 4. Intakes of energy and nutrients were higher in the FFQav than in the average of 24HR. The validity coefficients between nutrients intakes estimated by FFQav and the average of three 24HR are also presented in table 4. Highly significant correlations were

observed for most nutrients, ranging from $r=0.05$ for omega3 to $r=0.54$ for calcium and the average of correlation coefficients was 0.30. When the analysis was based on energy adjusted nutrient intakes, the magnitude of correlation coefficients was practically equal to the unadjusted estimates. De-attenuated Pearson correlation coefficients ranged from $r=0.19$ (PUFA) to $r=0.91$ (iron), the average of de-attenuated Pearson correlation coefficients was $r=0.44$.

Table 5 shows the mean daily intake for ten nutrients and fruits and vegetables, and the correlation coefficients between FFQ1 and plasma concentration (relative validity). The lowest coefficients were observed for lutein+zeaxanthin ($r=0.09$), β -carotene ($r=0.15$), alfa-carotene ($r=0.12$) and retinol ($r=0.15$) and the highest were for vitamin C ($r=0.33$), β -cryptoxanthin ($r=0.37$) and vitamin E ($r=0.23$); average of correlation coefficient was $r=0.21$. When the analysis was based on adjusted data some correlations improve and the average of correlation coefficients was $r=0.22$. The correlation coefficient between fruit and vegetable intake and plasma concentration of carotenoids was $r=0.14$. Between 55.8% (retinol) and 64.8% (beta-cryptoxantine) of children were classified in the same or adjacent quintiles by the FFQ1 and BM.

DISCUSSION

The results of this study indicate that the FFQ is a reasonably good method for dietary assessment among 4 to 5 years old children. The FFQ showed a good degree of reproducibility for most of the foods and nutrients, and an acceptable validity for the majority of nutrients. This validation study was undertaken because a new FFQ has been developed for assessment of the dietary intakes of children in the INMA-Project, a prospective cohort study of pregnant women and their offspring (Ribas-Fito et al. 2006; Guxens et al. 2011). To our knowledge this is the first study in which it is validated a FFQ in a Spanish children population aged 4 to 5 years old, where its reproducibility was evaluated in a period of six months and where its validity was explored with two different reference methods.

The correlation coefficients for most of the nutrients and food groups were comparable with those observed in other validation studies of FFQ among children and other populations (Burrows et al. 2009; Parrish et al. 2003; Fumagalli et al. 2008; Sahashi et al. 2011; Blum et al. 1999; J. Vioque and Gonzalez 1991; Matos et al. 2012).

Reproducibility was assessed by comparing the results from the FFQ at two different points of time separated approximately six months while validity was examined by comparing the nutrient intakes from FFQ and the mean intakes derived from three 24HR that was the most appropriate method given the conditions of the study. Validity was also explored by comparing the nutrient intakes from FFQ and biomarker concentrations of several nutrients in plasma that

are sensitive to dietary intake (carotenoids, vitamin C,E and retinol). The use of biochemical measures as reference method to evaluate the validity of the questionnaire is considered appropriate since the two methods of assessing diet have different sources of error that are unlikely to be correlated with each other (Hunter 1998; Bingham 2002).

Few studies have published data of reproducibility of FFQ in children(Watson et al. 2009; Field et al. 1999; Preston et al. 2011; Klohe et al. 2004; Kobayashi et al. 2011) and only one study examined the reproducibility in a six month period (Sahashi et al. 2011) .

In our study the average of correlation coefficients between the first and the second administration of the FFQ was 0.46 for the intakes of 29 nutrients considered. Similar results were observed in a study with Japanese children (5.3 to 6.7 years old), the reproducibility was evaluated in a six month period, the correlation coefficients ranged from 0.53 for (vitamin D) to 0.85 (β -carotene)(Sahashi et al. 2011) , while in our study ranged from 0.34 (retinol) to 0.63 (β -cryptoxanthin). With older children correlation coefficients were similar; in an Australian study the reproducibility was evaluated in a five month period in a 9 to 16 years old population, correlation coefficients ranged from 0.34 (sugars) to 0.51 (niacin equivalents) the average correlation coefficients were 0.44 (Watson et al. 2009). A study with elementary school children found low values for one week reproducibility, the correlation coefficients ranged from 0.11 (protein) to 0.33 (vitamin B12) (Preston et al. 2011), it may be that younger children are less likely to remember their diet.

When comparing the mean intakes of nutrients and foods of the FFQ1 and the FFQ2 (table2 and table3) we observed slightly higher intakes for many foods and nutrients in the second FFQ, and only statistically significant differences in lycopene and fatty fish which may support that there are not major changes in children's diet during the six months period. Although some studies had reported higher intakes in the first FFQ (Klohe et al. 2004), in general studies have shown no evidence of major changes during the period of reproducibility (Sahashi et al. 2011).

A study explored reproducibility for food groups (1 year) among four to five grade students (Field et al. 1999), this study showed correlation coefficients ranging from 0.26 (vegetables) to 0.4 (fruit juice), whereas our study showed correlation coefficients ranging from 0.05 for white meat to 0.73 for dairy products. In this case different food groups which were used to explore reproducibility produced different values for reproducibility. Klohe et al 2005 evaluated the reproducibility of a 191 items FFQ in an interval of two weeks, the Spearman correlation coefficients ranged from $r=0.53$ (soup) to $r=0.84$ (vegetables not starchy), these reproducibility coefficients were similar but higher than ours since the period of time for reproducibility was short (two weeks) which might cause artificial correlations.

Our FFQ showed a satisfactory reproducibility for most foods and nutrients, particularly for those more frequently eaten and therefore it may be considered a reliable dietary assessment method among children.

The validity was assessed by comparing the mean nutrients values derived from FFQav and the mean derived from three non-consecutive 24HR; these two methods considered the same period of time (approximately six months). We used three 24HR what was enough to estimate energy and nutrients (Ma et al. 2009), a greater number of recalls was not feasible due to the limited resources of the study, and also a greater number of recalls may produce risk of fatigue, boredom and training effects, (Livingstone and Robson 2000).

Regarding to the intake of energy, in our study the validity coefficient between the FFQav and the average of three 24HR was 0.28 higher than correlation found in a study with 1 to 3 years old children ($r=0.08$); in this study the average for the validity coefficients was 0.31 similar but higher than in our study ($r=0.28$) (Parrish et al. 2003). Similar results were found in a study with 9 to 18 years old children ($n=261$) where validity was evaluated with three 24HR in a one year period and the average of correlation coefficient was higher than in our study (Rockett et al. 1997), this may be due to that older children had more capacity to remember their diets.

In our study the mean nutrients and energy intake derived from the three 24HR were smaller than those derived from the FFQav. In general nutrient and food intake estimated by the FFQ were higher than those estimated by the 24HR (Parrish et al. 2003; Stein et al. 1992, 19; Blum et al. 1999; Field et al. 1999) only one study showed big intakes in the recalls than in the FFQ (Rockett et al. 1997). These differences between both methods are unlikely to be explained by different nutrient values in the data bases, since nutrient composition data for both methods ultimately derive from the same data source, and portion sizes for analyzing the food frequency data were modified to reflect average serving sizes for children. Also, the FFQ and the 24 HR were administered to the same caregiver by the same interviewers.

Some Pearson coefficients for validity against 24HR were low (for example PUFA, Omega3) a possible explanation for this findings is that 71% of children were lunchroom users at school and parents or caregivers didn't know entirely the food intake of the children, in fact when we stratified by the use of lunchroom the correlation coefficients improve slightly for the children that not used lunchroom ($n= 50$, average of correlation coefficients $r=0.34$). In addition to, all correlation coefficients improve when we corrected them by the intra-individual variability of the 24HR by applying de-attenuated correlation coefficients.

Regarding the relative validity of the FFQ assessed by biomarkers, poor correlations were found between dietary intake and plasma concentrations of retinol, α -carotene and lutein + zeaxanthin. Low validity coefficients have been also found in other studies with children (Ortiz-

Andrellucchi et al. 2009) as well as other population (Henriquez-Sanchez et al. 2009; Jesus Vioque et al. 2007) .

Although serum nutrient concentrations provide an independent measure of nutrient intake, many are influenced by nondietary factors. Retinol concentrations in plasma is highly regulated by liver stores over a wide range of dietary intakes that can be found mainly in subjects with either severely depleted or highly saturated liver stores(W. C. Willett et al. 1983). For vitamin E it has been suggested that plasma concentration may not be a good marker for usual nutrient intake among children and that other tissues (e.g., adipose tissue) may better represent usual vitamin E intake (Hunter 1998). Nevertheless, the lack of validity for retinol deserves attention when using this FFQ in the study of diet disease. The other biomarkers (carotenoids as lycopene and cryptoxanthin ...) vary with dietary intake and would be more appropriate markers for nutritional intake.

In a study with older children (9 years old) usual food and nutrient intake was evaluated with a 137 items FFQ and validity was explored by comparing the results of the questionnaire with serum levels of β and α - carotene, β -cryptoxanthin, lycopene and lutein; correlations coefficients for β -cryptoxanthin ($r=0.32$), lycopene ($r=0.42$) and lutein ($r=0.16$) were similar to those observed in our study ($r=0.35$, $r=0.28$ and $r=0.10$ respectively).(Burrows et al. 2009).Validity coefficients in our study were slightly lower but very similar to those found in a previous study with 1 to 3 years old children where the average correlation for validity was $r=0.26$ (Parrish et al. 2003), in this study correlations for β -cryotoxanthin ($r=0.41$) and for β -carotene ($r= 0.13$) were very similar to our study (0.35 and 0.10 respectively).

Main differences in correlations between FFQ and BM in the different studies may be due to the different composition and bioavailability of nutrients in the food matrix, the data for analysis which derived from different data bases and other factors as fat content of diet, absorption process on individual, etc. (van Het Hof et al. 2000).

When the correlation analysis was based on the classification of the body mass index (BMI) for the children (normoweight $n=124$, overweight and obese $n=29$) correlations for lutein+zeaxanthin and β -cryptoxantin were higher for overweight and obese children than for normoweight children. On the other hand for vitamin E and lycopene we observed higher correlation for normoweight children than over and obese. In this way some nutrients as vitamin E and lycopene are distributed between plasma and adipose tissue (dominant storage in humans), individuals with higher fat mass (over –weight and obese) would be expected to accumulate a large proportion of ingested carotenoids in the adipose tissue and lesser in the circulation (Burrows et al. 2009; Jesus Vioque et al. 2007). Consequently individuals on overweight the serum levels of these nutrients may be not at all representative of the dietary intake

(data not shown). This results shows that blood level of BM may be influenced by BMI of the children.

Blood samples and FFQ were collected since the availability of foods with high content of carotenoids may differ substantially according to the season of the year. In fact, when the analysis was performed according to the season of the year except for lutein+zeaxanthin and vitamin C, all correlation coefficients were higher in autumn than in the other seasons.

One possible explanation may be that in spring and summer food rich in carotenoids are more consumed (fruits and vegetables) increasing serum biomarkers for these nutrients, so that when measuring their blood level in autumn what they are really reflecting is the average intake (cumulative) of these nutrients in the months leading up to autumn and winter (W. Willett 1998).

Despite some correlations were low, our results support that the FFQ may be valid to estimate of long-term intakes and rank children according to their intakes for relevant nutrients. These results showed that our FFQ is a valid tool that let us to classify children according to their nutrient intake.

A possible limitation of our study is that children of 4 to 5 years old have not developed the ability to think abstractly and was not familiar to the concept of averaging or reporting "usual" food intake and that is why children's caregivers answered to the questionnaires. This fact could affect to the reproducibility and validity of the FFQ because consciously or unconsciously caregivers may be declaring the desired diet for their children and also may not know what their children eat when they are not in charge of. Interviewers carefully completed both FFQ on personal interviews to mothers or caregivers of children. Interviewers also interviewed directly the mothers in order to do three 24HR. For this purpose the interviewers said to mothers to ask caregivers of children (school canteens caregivers, grandparents, babysitters etc. ...) what children ate when they were away from home. So interviewers got complete and accurate information on regular food intake of children.

Other limitation of the study was that we used a period of approximately six months to evaluate the validity and the reproducibility of the questionnaire which may lead to an underestimation of certain nutrients that depend on the season of the year (for example the availability of foods with high content of carotenoids may differ substantially according to the season of the year). We think that long time intervals may be inappropriate in children as their food intake habits change rapidly and it may be mistaken for poor performance on the questionnaire over time (Klohe et al. 2004) . Short time intervals can produce artificially high correlations between the two administration of the FFQ, and the FFQ and 24HR due to their proximity in time.

Regarding validity between the FFQ and 24HR, both methods rest in memory, 24HR can present certain disadvantages for using as gold standard, and the measurement errors of the two methods are not likely to be completely independent. On one hand, these two methods rest in different kinds of memory (FFQ is related to generic memory and 24HR on episodic memory), so that errors are less dependent on each other. On the other hand, 24-hour recalls were conducted by trained interviewers who employ strategies to ensure that foods are not forgotten and check to verify questionable responses obtaining an accurate estimation of real food intake. Maybe the use of dietary records can induce changes in diet when caregivers complete the diet registration (Livingstone, Robson, and Wallace 2004).

In conclusion, our findings show that reproducibility and validity of the FFQ assessed in this study using biological markers and 24 hours recall were comparable with the results of earlier studies. We conclude that our FFQ is a good method for assessing intake of several relevant foods and nutrients during childhood.

REFERENCES

Bingham, Sheila A. Biomarkers in Nutritional Epidemiology. *Public Health Nutrition*. 2002; 5 (6A): 821–27.

Blum, R. E., E. K. Wei, H. R. Rockett, J. D. Langeliers, J. Leppert, J. D. Gardner, and G. A. Colditz. Validation of a Food Frequency Questionnaire in Native American and Caucasian Children 1 to 5 Years of Age. *Maternal and Child Health Journal*. 1999; 3: 167-2.

Burrows, Tracy L., Janet M. Warren, Kim Colyvas, Manohar L. Garg, and Clare E. Collins. Validation of Overweight Children's Fruit and Vegetable Intake Using Plasma Carotenoids. *Obesity*. 2009; 17: 162-8.

Cole, T. J., M. C. Bellizzi, K. M. Flegal, and W. H. Dietz. Establishing a Standard Definition for Child Overweight and Obesity Worldwide: International Survey. *British Medical Journal*. 2000; 320: 1240–43.

Craft, N. E. Carotenoid Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography Methods: Reference Compendium. *Methods in Enzymology*. 1992; 213: 185–205.

Field, A. E., K. E. Peterson, S. L. Gortmaker, L. Cheung, H. Rockett, M. K. Fox, and G. A. Colditz. Reproducibility and Validity of a Food Frequency Questionnaire among Fourth to Seventh Grade Inner-City School Children: Implications of Age and day-to-day Variation in Dietary Intake. *Public Health Nutrition*. 1999; 2: 293-300.

Fumagalli, Fernanda, Jacqueline Pontes Monteiro, Daniela Saes Sartorelli, Marta Neves Campanelli Marcal Vieira, and Maria de Lourdes Pires Bianchi. Validation of a Food Frequency

Questionnaire for Assessing Dietary Nutrients in Brazilian Children 5 to 10 Years of Age. *Nutrition*. 2008; 24: 427-32 .

Granado-Lorencio F, Herrero-Barbudo C, Blanco-Navarro I, Pérez.Sacristán B. Suitability of ultra-performance liquid chromatography for the determination of fat-soluble nutritional status (vitamin A, E, D and individual carotenoids). *Anal Bioanal Chem*. 2010; 397: 1389-1893.

Guxens, M., Ballester, F., Espada, M., Fernández, M.F., Grimalt, J.O., Ibarluzea, J., Olea, N., Rebagliato, M., Tardón, A., Torrent, M., Vioque, J., Vrijheid, M., Sunyer, J., Project, on behalf of I. Cohort Profile: The INMA--Infancia y Medio Ambiente--(Environment and Childhood) Project. *Int J Epidemiol*. 2012; 41: 930-40.

Henriquez-Sanchez, P., Almudena Sanchez-Villegas, J. Doreste-Alonso, A. Ortiz-Andrellucchi, K. Pfrimer, and L. Serra-Majem. Dietary Assessment Methods for Micronutrient Intake: A Systematic Review on Vitamins. *Br J Nutr*. 2009; 102 Suppl 1: S10–37.

Hunter, D. 1998. *Biochemical Indicators of Dietary Intake*. New York, Oxford: Oxford University Press.

Klohe, D. M., K. K. Clarke, G. C. George, T. Milani, H. Hanss-Nuss, and J. H. Freeland-Graves. Relative Validity and Reliability of a Food Frequency Questionnaire for a Tri-Ethnic Population of 1-3 Year Old Children from Low-Income Families. *Faseb Journal*. 2005; 105: 727-34.

Kobayashi, Tomomi, Miharu Kamimura, Shino Imai, Chihiro Toji, Naoko Okamoto, Mitsuru Fukui, and Chigusa Date. Reproducibility and Validity of the Food Frequency Questionnaire for Estimating Habitual Dietary Intake in Children and Adolescents.” *Nutrition Journal*. 2011; 10: 27.

Livingstone, M. B. E., and P. J. Robson. Measurement of Dietary Intake in Children. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2000; 59: 279-93.

Livingstone, M. B. E., P. J. Robson, and J. M. W. Wallace. Issues in Dietary Intake Assessment of Children and Adolescents. *British Journal of Nutrition*. 2004; 92 Suppl 2: S213-22.

Ma, Yunsheng, Barbara C Olendzki, Sherry L Pagoto, Thomas G Hurley, Robert P Magner, Ira S Ockene, Kristin L Schneider, Philip A Merriam, and James R Hébert. Number of 24-Hour Diet Recalls Needed to Estimate Energy Intake. *Annals of Epidemiology*. 2009; 19: 553–59.

Matos, S. M. A., M. S. Prado, C. A. S. T. Santos, S. D’Innocenzo, A. M. O. Assis, L. S. Dourado, N. S. Oliveira, L. C. Rodrigues, and M. L. Barreto. Validation of a Food Frequency

Questionnaire for Children and Adolescents Aged 4 to 11 Years Living in Salvador, Bahia. *Nutricion Hospitalaria*. 2012; 27: 1114-9.

Okasha, M., P. McCarron, D. Gunnell, and G. D. Smith. 2003. "Exposures in Childhood, Adolescence and Early Adulthood and Breast Cancer Risk: A Systematic Review of the Literature." *Breast Cancer Research and Treatment* 78 (2).

Ortiz-Andrellucchi, Adriana, Patricia Henriquez-Sanchez, Almudena Sanchez-Villegas, Luis Pena-Quintana, Michelle Mendez, and Lluís Serra-Majem. Dietary Assessment Methods for Micronutrient Intake in Infants, Children and Adolescents: A Systematic Review. *British Journal of Nutrition*. 2009; 102 Suppl 1: S87-117.

Palma, Farran, and Cantos. 2008. *Tablas de Composición de Alimentos Por Medidas Caseras de Consumo Habitual En España*. CESNID. MADRID. Mc Graw Hill Interamerican.

Parrish, L. A., J. A. Marshall, N. F. Krebs, M. Rewers, and J. M. Norris. Validation of a Food Frequency Questionnaire in Preschool Children. *Epidemiology*. 2003; 14: 213-7.

Preston, Alan M., Cristina Palacios, Cindy A. Rodriguez, and Rose M. Velez-Rodriguez. Validation and Reproducibility of a Semi-Quantitative Food Frequency Questionnaire for Use in Puerto Rican Children. *Puerto Rico Health Sciences Journal*. 2011; 30: 58-64.

Ribas-Fito, Nuria, Rosa Ramon, Ferran Ballester, Joan Grimalt, Alfredo Marco, Nicolas Olea, Manuel Posada, et al. Child Health and the Environment: The INMA Spanish Study. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*. 2006; 20: 403-10.

Rockett, H. R. H., M. Breitenbach, A. L. Frazier, J. Witschi, A. M. Wolf, A. E. Field, and G. A. Colditz. Validation of a Youth/adolescent Food Frequency Questionnaire. *Preventive Medicine*. 1997; 26: 808-16.

Sahashi, Yukari, Michiko Tsuji, Keiko Wada, Yuya Tamai, Kozue Nakamura, and Chisato Nagata. Validity and Reproducibility of Food Frequency Questionnaire in Japanese Children Aged 6 Years. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 2011; 57: 372-6.

Stein, A. D., S. Shea, C. E. Basch, I. R. Contento, and P. Zybert. Consistency of the Willett semiquantitative food frequency questionnaire and 24-hour dietary recalls in estimating nutrient intakes of preschool-children. *American Journal of Epidemiology*. 1992; 135: 667-77.

USDA. 2010. U.S. Department of Agriculture. Agricultural Research Service 2010 USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 23. Nutrient Data Laboratory Homepage, <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>.

Van der Pols, Jolieke C., Chris Bain, David Gunnell, George Dave Smith, Clare Frobisher, and Richard M. Martin. Childhood Dairy Intake and Adult Cancer Risk: 65-Y Follow-up of the Boyd Orr Cohort. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2007; 86: 1722-9.

Van Het Hof, K. H., C. E. West, J. A. Weststrate, and J. G. Hautvast. Dietary Factors That Affect the Bioavailability of Carotenoids. *The Journal of Nutrition*. 2000; 130: 503-6.

Vioque, J., Gonzalez, L. Validity of a food frequency questionnaire (preliminary results). *Eur J Cancer Prev*. 1991; 1: 19-20.

Vioque, Jesus, Tanja Weinbrenner, Laura Asensio, Adela Castello, Ian S. Young, and Astrid Fletcher. Plasma Concentrations of Carotenoids and Vitamin C Are Better Correlated with Dietary Intake in Normal Weight than Overweight and Obese Elderly Subjects. *British Journal of Nutrition*. 2007; 97: 977-86.

Vuilleumier, Jp, and E. Keck. Fluorometric Assay of Vitamin-C in Biological-Materials Using a Centrifugal Analyzer with Fluorescence Attachment. *Journal of Micronutrient Analysis*. 1989; 5: 25-34.

Watson, Jane F., Clare E. Collins, David W. Sibbritt, Michael J. Dibley, and Manohar L. Garg. Reproducibility and Comparative Validity of a Food Frequency Questionnaire for Australian Children and Adolescents. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity*. 2009; 6: 62.

Willett, W C, M J Stampfer, B A Underwood, F E Speizer, B Rosner, and C H Hennekens. Validation of a Dietary Questionnaire with Plasma Carotenoid and Alpha-Tocopherol Levels. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1983; 38: 631-39.

Willett, W. C., L. Sampson, M. J. Stampfer, B. Rosner, C. Bain, J. Witschi, C. H. Hennekens, and F. E. Speizer. Reproducibility and Validity of a Semiquantitative Food Frequency Questionnaire. *Am J Epidemiol*. 1985; 122: 51-65.

Willett, Walter. 1998. *Nutritional Epidemiology*. Oxford University Press.

Table1. Characteristics of participant children (n=590) of the Infancia y Medio Ambiente (INMA–Valencia study).

	Validatio study (n=169)	No validation study (n=421)	^a p-value
	Mean (SD)	Mean (SD)	
Age (Years)	4.3 (0.1)	4.3 (0.2)	0,006
Body Mass Index (Kg/m²)	16.0 (1.5)	16.3 (1.8)	0,144
	% (n)	% (n)*	
Body Mass Index (Kg/m²), in categories			0,733
Normal	80 (137)	79 (331)	
Overweight - Obesity	20 (32)	21 (86)	
Missing data	0	4	
Gender			0,202
Male	49 (82)	54 (227)	
Female	51 (87)	46 (190)	
Missing data	0	4	
Socioeconomic status			0,489
I+II	21 (36)	18 (73)	
III	26 (44)	25 (105)	
IV+V	53 (89)	57 (239)	
Missing data	0	4	
Education level			0,452
>= Primary School	33 (55)	27 (114)	
Secondary School	41 (70)	45 (186)	
University	26 (44)	28 (117)	
Missing data	0	4	
Lunchroom			0,843
< 1 time/ week	30 (50)	31 (129)	
> = 1 time / week	70 (119)	69 (290)	
Missing data	0	2	
Country of origin			0,16
Spain	93 (158)	90 (374)	
Other Countries	7 (11)	10 (43)	
Missing data	0	4	
Energy (Kcals/day), mean (sd)	1592 (328)	1569 (368)	0,490
Carbohydrates (g/day), mean (sd)	195 (47.1)	193 (51.8)	0,732
Proteins (g/day), mean (sd)	68.8 (14.2)	68.4 (15.3)	0,798
Fats (g/day), mean (sd)	63.0 (15.3)	61.0 (16.7)	0,187
Fiber (g/day), mean (sd)	15.0 (4.4)	14.0 (4.1)	0,007

BMI Body Mass Index (kg/m²); ^a p values from t Student-test (continuous variables) and from Fisher test (categorical variables)

Table 2. Mean daily nutrient intakes and Pearson Correlation coefficients among children (n=169) of the Infancia y Medio Ambiente (INMA)–Valencia study

	FFQ1 ^a	FFQ2 ^a	p ^b	Pearson coefficient correlations between FFQ1 and FFQ2		Percent of agreement ^c
				Unadjusted ^c	Adjusted ^d	
Nutrientes (units/day)						
Energy (kcal/day)	1592 (328)	1628 (500)	0.437	0.35		68.0
Protein (g/day)	69 (14)	73 (23)	0.071	0.36	0.45	63.3
Total carbohydrates (g/day)	195 (47)	193 (65)	0.720	0.36	0.28	68.6
Dietary fiber (g/day)	15 (4.4)	15 (6.6)	0.914	0.35	0.30	61.5
Cholesterol	209 (49)	223 (87)	0.056	0.44	0.39	71.6
Total fat (g/day)	63 (15)	66 (24)	0.121	0.33	0.31	68.0
SFA (g/day)	23 (5.7)	23 (8.3)	0.404	0.39	0.46	70.4
MUFA (g/day)	26 (7.6)	28 (11)	0.110	0.30	0.30	66.9
PUFA (g/day)	9.5 (2.6)	10 (4.6)	0.037	0.32	0.31	64.5
Omega 3 (g/day)	1.0 (0.3)	1.1 (0.4)	0.010	0.42	0.44	67.5
Omega 6 (g/day)	8.4 (2.4)	9.2 (4.3)	0.044	0.32	0.33	64.5
Retinol (µg/day)	498 (332)	556 (515)	0.222	0.34	0.36	71.6
α- carotene (µg/day)	296 (246)	265 (249)	0.246	0.39	0.38	71.0
β- carotene (µg/day)	1364 (866)	1454 (118)	0.427	0.53	0.53	75.1
β- Cryptoxanthin (µg/day)	170 (130)	202 (194)	0.080	0.64	0.62	74.0
Lutein+Zeaxanthin (µg/day)	935 (565)	1014 (734)	0.270	0.52	0.50	70.4
Lycopene (µg/day)	1466 (910)	2319 (1428)	<0.001	0.50	0.51	74.0
Vitamin B6 (mg/day)	1.3 (0.5)	1.4 (0.7)	0.006	0.42	0.31	68.0
Folato (µg/day)	185 (62)	199 (86)	0.100	0.43	0.49	65.7
Vitamin B12 (µg/day)	6.0 (2.4)	6.8 (4.1)	0.025	0.41	0.33	68.6
Vitamin C (mg/day)	64 (46)	79 (80)	0.029	0.60	0.56	71.0
Vitamin D (µg/day)	4.2 (2.4)	4.6 (2.3)	0.141	0.39	0.45	68.6
Vitamin E (mg/day)	8.0 (3.4)	8.9 (4.6)	0.015	0.40	0.52	65.1
Calcium (mg/day)	1048 (306)	1059 (419)	0.789	0.39	0.53	72.2
Iron (mg/day)	10.4 (4.8)	10.7 (7.0)	0.684	0.43	0.43	65.1
Magnesium (mg/day)	235 (55)	242 (80)	0.339	0.38	0.53	68.6
Sodium (mg/day)	2131 (469)	2195 (733)	0.340	0.33	0.30	64.5
Zinc (mg/day)	8.6 (2.0)	9.1 (3.0)	0.071	0.40	0.43	66.9
Iodine (µg/day)	144 (48)	145 (61)	0.827	0.42	0.54	69.8
Average				0.41	0.42	68.5

^a FFQ1 & FFQ2 administered with a 6 months difference; ^b P-value paired t-test; ^c Nutrient crude intakes were log-transformed; ^d Adjusted for total energy; ^e Overall percentage categorized in the same or an adjacent quintile; SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, Polyunsaturated fatty acids; all coefficients p<0.01.

Table 3. Mean daily food and food groups intake and Pearson Correlation coefficients among children (n=169) of the Infancia y Medio Ambiente (INMA)–Valencia study

	FFQ1 ^a		p ^b	Pearson coefficient correlations between FFQ1 and FFQ2		Percent of agreement ^c
	Mean (SD)	Mean (SD)		Unadjusted ^c	Adjusted ^d	
Foods (g/day)						
Dairy Products (g/day)	541 (215)	539 (272)	0.940	0.72	0.80	74.6
Eggs (g/day)	14 (5)	13 (7)	0.332	0.39	0.40	99.4
White meat (g/day)	24 (11)	27 (15)	0.085	0.16*	0.18*	63.3
Red meat (g/day)	25 (13)	30 (21)	0.005	0.40	0.38	66.3
Processed meat (g/day)	31 (12)	32 (22)	0.596	0.41	0.39	66.9
Fatty fish (g/day)	8 (7)	13 (12)	<0.001	0.35	0.34	62.1
Lean fish (g/day)	15 (10)	18 (11)	0.045	0.41	0.43	63.3
Seafood (g/day)	8 (5)	11 (9)	0.002	0.56	0.50	71.6
Fruits (g/day)	155 (123)	203 (252)	0.027	0.54	0.51	72.2
Vegetables (g/day)	58 (41)	57 (43)	0.811	0.64	0.65	78.1
Nuts (g/day)	4 (4)	4 (10)	0.874	0.40	0.41	86.4
Legumes (g/day)	18 (11)	21 (20)	0.094	0.39	0.41	66.9
Cereals and Pasta (g/day)	59 (26)	63 (30)	0.156	0.24	0.27	68.6
Bread (g/day)	73 (39)	60 (46)	0.007	0.34	0.36	63.9
Potatoes (g/day)	32 (15)	29 (16)	0.125	0.58	0.60	64.5
Sweets and sugar (g/day)	55 (29)	49 (37)	0.072	0.43	0.49	72.8
Vegetable Fat (g/day)	11 (8)	13 (11)	0.080	0.34	0.35	66.3
Average				0.43	0.44	71.01

^a FFQ1 & FFQ2 administered with a 6 months difference; ^b P-value paired t-test; ^c Nutrient crude intakes were log-transformed; ^d Adjusted for total energy; ^e Overall percentage categorized in the same or an adjacent quintile; *p<0.05, all other coefficients p<0.01.

Table 4. Mean daily food intakes by the average of the FFQs and the average of the 24HRs and Pearson Correlation coefficients in children (n=169) of the Infancia y Medio Ambiente (INMA)–Valencia study

	FFQav ^a	24HRav ^b	p ^c	Pearson coefficient correlations between FFQav and 24HRav			Percent of agreement ^g
				Unadjusted ^d	Adjusted ^e	De-attenuated ^f	
Mean (SD)	Mean (SD)						
Nutrients (units/day)							
Energy (kcal/day)	1610 (350)	1255 (183)	<0.001	0.29			64.5
Protein (g/day)	70 (16)	53 (9.5)	<0.001	0.30	0.38	0.55	62.7
Total carbohydrates (g/day)	194 (48)	161 (29)	<0.001	0.30	0.29	0.41	60.4
Dietary fiber (g/day)	15 (4.7)	11 (3.5)	<0.001	0.26	0.22	0.32	63.9
Cholesterol	216 (58)	178 (61)	<0.001	0.31	0.21	0.30	62.7
Total fat (g/ day)	65 (16)	46 (8.9)	<0.001	0.26	0.18	0.26	60.9
SFA (g/ day)	23 (5.9)	18 (4.0)	<0.001	0.39	0.40	0.58	63.3
MUFA (g/day)	27 (7.5)	19 (4.0)	<0.001	0.21	0.14	0.20	62.7
PUFA (g/ day)	9.9 (2.9)	5.8 (1.4)	<0.001	0.11	0.13	0.19	57.4
Omega 3 (g/day)	1.0 (0.3)	0.8 (0.3)	<0.001	0.05	0.19	0.27	52.7
Omega 6 (g/day)	8.8 (2.7)	4.9 (1.3)	<0.001	0.15	0.16	0.23	57.4
Retinol (µg/day)	527 (342)	291 (148)	<0.001	0.26	0.21	0.30	57.4
α- carotene (µg/day)	280 (213)	204 (234)	0.002	0.31	0.34	0.49	66.3
β- carotene (µg/day)	1409 (888)	681 (600)	<0.001	0.34	0.38	0.55	60.9
β- Cryptoxanthin (µg/day)	186 (147)	69 (108)	<0.001	0.30	0.31	0.44	62.7
Lutein+Zeaxanthin (µg/day)	974 (572)	364 (465)	<0.001	0.25	0.30	0.43	63.3
Lycopene (µg/day)	1893 (1003)	702 (1038)	<0.001	0.36	0.37	0.53	62.1
Vitamin B6 (mg /day)	1.4 (0.5)	1.0 (0.4)	<0.001	0.29	0.32	0.46	63.9
Folato (µg/day)	192 (64)	124 (38)	<0.001	0.23	0.23	0.33	55.0
Vitamin B12 (µg/day)	6.4 (2.7)	3.7 (1.6)	<0.001	0.29	0.32	0.46	62.1
Vitamin C (mg /day)	72 (59)	38 (24)	<0.001	0.36	0.40	0.57	62.1
Vitamin D (µg/day)	4.4 (2.0)	4.2 (1.7)	0.348	0.36	0.29	0.42	62.1
Vitamin E (mg/day)	8.3 (3.3)	3.7 (1.0)	<0.001	0.25	0.22	0.31	56.8
Calcium (mg/day)	1054 (309)	784 (205)	<0.001	0.54	0.58	0.84	70.4
Iron (mg/day)	10.5 (4.9)	8.8 (4.6)	<0.001	0.49	0.63	0.91	70.4
Magnesium (mg/day)	238 (58)	178 (33)	<0.001	0.36	0.33	0.48	61.5
Sodium (mg/day)	2163 (498)	1689 (440)	<0.001	0.19	0.25	0.36	57.4
Zinc (mg/day)	8.9 (2.2)	6.4 (1.2)	<0.001	0.32	0.37	0.53	59.8
Iodine (µg/day)	145 (47)	92 (38)	<0.001	0.46	0.34	0.49	65.7
Average correlation coefficients				0.30	0.30	0.44	61.7

^a Average of FFQ1 and FFQ2; ^b Average of the three 24HR; ^c p value from t-test; ^d Nutrient crude intakes were log-transformed; ^e Adjusted for total energy; ^f log-transformed, adjusted for total energy and deattenuated; ^g Overall percentage categorized in the same or an adjacent quintile; SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, Polyunsaturated fatty acids; p value <0.01 for correlations >=0.2; p value <0.05 for correlations 0.15 to 0.19; all other values p>0.05.

Table 5. Mean daily nutrient and food intakes by the first FFQ and nutrient plasma concentration and Pearson correlation coefficients in children (n=165) of the Infancia y Medio Ambiente (INMA)–Valencia study.

Nutrients and foods	FFQ1 Mean (SD)	Plasma Concentration Mean (SD)	Pearson coefficient correlations between FFQ1 and plasma concentrations		Agreement (%) ^c
			r ^a	r ^b	
Vitamin E (µg/dl)	7.9 (3.4)	1105 (178)	0.23*	0.29*	61.2
Lutein + Zeaxanthin (µg/dl)	942 (568)	19 (4.7)	0.09	0.05	57.6
β- Cryptoxanthin (µg/dl)	169 (131)	23 (13)	0.37*	0.40*	64.8
Lycopene (µg/dl)	1478 (912)	53 (20)	0.27*	0.31*	56.4
α- carotene (µg/dl)	297 (248)	19 (6.5)	0.12	0.12	57.0
β- carotene (µg/dl)	1367 (869)	34 (16)	0.15	0.15	60.6
Retinol (µg/dl)	505 (333)	31 (6.2)	0.14	0.06	55.8
Vitamin C (µmol/l) [†]	64 (47)	55 (18)	0.33*	0.35*	61.1
Average			0.21	0.22	59.3
Fruits and vegetables (g/day) & Total carotenoids (µg/dl) ^d	213 (143)	95 (29)	0.137	0.140	58.2

^a Nutrient intakes were log-transformed; ^b Adjusted for total energy and plasma carotenoids and vitamin E for total cholesterol; ^c Overall proportion categorized in the same or an adjacent quintile; ^d Carotenoids sum of α- carotene, β- carotene, Lutein + Zeaxanthin, β- Cryptoxanthin, Lycopene; ^e Carotenoids sum of α- carotene, β- carotene, Lutein + Zeaxanthin, β- Cryptoxanthin; [†] n=157; * p<0.01, all other p>0.05

ANEXO II

Reproducibility and validity of a semi-quantitative food frequency questionnaire in Spanish young adults

Daniel Gimenez-Monzo¹, Eva María Navarrete-Muñoz^{1,2}, Manuela García de la Hera^{1,2}, Sandra Gonzalez-Palacios¹, Desirée Valera-Gran¹, Jesús Vioque^{1,2}

1 Departamento de Salud Pública, Universidad Miguel Hernández, Campus San Juan, Spain

2 CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Spain

Corresponding author: Jesús Vioque. Departamento de Salud Pública, Campus San Juan.
Universidad Miguel Hernández. Ctra. Nacional 332 s/n 03550-Sant Joan d'Alacant España

Abstract

Background: The measurement of diet is essential to explore the influence of diet in the development of diseases. Food frequency questionnaire (FFQ) is the most frequently tool to assess the diet in different populations, but its usage is scarce in Mediterranean young adults. The aim of this study was to assess the reproducibility and validity (against 24 hours recalls and biochemical biomarkers) of a semi-quantitative FFQ in Mediterranean young adults for estimating food groups and nutrient intake.

Methods: The 169 young adult including in this analysis were a subsample of participants of DiSA-UMH study. The participants completed two self-administered FFQ and between three to nine 24 hours recall (24HR) during one year. They also provided a fasting blood sample at the beginning of the study to estimate biochemical biomarkers (BM) of several carotenoids, vitamin C and α -tocopherol. Pearson correlation coefficients were calculated to evaluate the reproducibility using two FFQ and the validity of FFQ using as reference methods 24HR and BM.

Results: Significant correlations between the two FFQ (reproducibility) were found for all nutrients and food groups, the average correlation coefficients for daily intake were 0.53 for nutrients and 0.54 for food groups. The correlation coefficients for daily intake for nutrients validity using 24HR ranged from $r=0.10$ (vitamin B12) to $r=0.60$ (b-carotene), the average of correlation coefficients was $r=0.41$. When evaluating validity against BM, statistically significant correlations were observed for several carotenoids and vitamin C except for α -tocopherol ($r=0.08$), the average of correlation coefficients was $r=0.29$.

Conclusion: Our findings suggest that the FFQ had a good reproducibility for nutrients and food group intake, and can provided a valid estimate of several nutrients compared with 24HR and BM in a Mediterranean Spanish young adult population.

Key words: diet, nutrient intake, food frequency questionnaire, young adult, validity

INTRODUCTION

The measurement of usual diet is essential to explore the influence of diet in the development of chronic diseases as cancer, diabetes or cardiovascular disease (Estruch et al., 2013; Miller et al., 2004; Vioque et al., 2008). Young adulthood represents an important stage for acquiring dietary habits, which may constitute a relevant factor related to the occurrence of chronic diseases later in life (Nelson et al., 2008; Thorp et al., 2011). However, assessing complex exposures as diet require accurate tools to provide more based-evidence in relation to diseases.

The food frequency questionnaires (FFQ) have been commonly the dietary method more used in epidemiological studies to assess the long term usual food consumption due to their low cost, ease of administration and processing compared with other dietary assessment methods, but FFQ need to be validated before using it in a specific population (Willett, 1998).

There is no perfect diet method against FFQ's should be validated. Although, FFQ are often validated using some 24 hours recall (24HR) and food records as gold standard because both methods are based on actual intake and the errors are different to the FFQ (Cade et al., 2002; Shim et al., 2014; Willett, 1998). Recently, the use biochemical biomarkers (BM) for nutrients intake may be an alternative reference method for the validation of some nutrient intakes which its usage in last years are more frequently due their errors are independent from those of FFQ (Bingham, 2002; Jenab et al., 2009). Thus, the use of multiple reference methods in the validation studies strengthens the validity of the questionnaire (Kaaks, 1997).

The FFQ have been develop and validated for different populations (Fernández-Ballart et al., 2010; Henriquez-Sanchez et al., 2009; Rivas et al., 2009; Vioque et al., 2013) although its usage and validation is scarce in young adults (Aguirre-Jaime et al., 2008; Spencer et al., 2005), especially in Mediterranean population.

The aims of this study were to assess the reproducibility for estimating food groups and nutrients intake of semi-quantitative FFQ by two measurements in one year and assess the validity for estimating nutrients intake using 24HR and BM as reference methods in Mediterranean Spanish young adults of the DiSA-UMH Study.

METHODS

Study population

The DiSA-UMH ("Dieta, salud y antropometría en población universitaria") Project is a prospective cohort study of health science university students between 17 and 35 years from the Miguel Hernández University in Alicante, Spain. The study rationale and design has been previously described in detail (Navarrete-Muñoz et al., 2015). Briefly, 1204 subjects (868 female and 336 male) include in this study were recruited during the period 2006-2012, at the baseline of prospective cohort study. After we excluded the participants with extremes values for mean daily energy intake (<800 and >4000 kcal/day for men, <500 and >3500 kcal/day for

women) which indicate misreporting, (Willett, 1998) 1165 participants were included in the project.

For the present analyses, we assessed 169 participants of the DiSA-UMH Project, 41 men (24.3%) and 128 women (75.7%). They were not randomly selected; they were participants in the two first years of study. The participants completed a self-administered of FFQ in two times in one year (FFQ1 and FFQ2), between 3-9 24 HR during one year and a sample of this population (n=105) also provided a blood at the baseline (Figure 1). All participants gave their informed consent at baseline. The study was approved by the ethics committee of the Miguel Hernandez University.

Covariates

The following information was collected at baseline: age in years, sex (women/men), smoking status (no/yes), self-reported physical activity (sedentary or very low active, moderately, quite or very active) and self-rated health (Excellent or good and fair, poor or very poor) (Barrios-Vicedo et al., 2014; Martínez-Moyá et al., 2014)

The body mass index (BMI) was calculated by dividing the self-reported weight in kilograms by the squared self-reported height in meters and classified in two categories of excess of weight (no: BMI<25; yes: BMI≥25). The self-reported weight and height were validated by comparing them to direct weight and height measurements in a subgroup of the study (n=628): the Pearson correlation coefficients were 0.97 for the weight, 0.96 for the height and 0.95 for the BMI (Savane et al., 2013).

Dietary assessment: Semi-quantitative food frequency questionnaire

Usual dietary intake was evaluated using a self-administrated semi-quantitative FFQ of 84 food items (available at: <http://bibliodieta.umh.es/cfa-84-obesigen/>). The FFQ was an adapted version of FFQ by Willett (Willett et al., 1985) and validated for Spanish populations (Vioque & Gonzalez 1991; Vioque et al., 2007; Vioque et al., 2013). Participants in the study were asked twice during one year how often, on average, they had consumed each food item of the FFQ. The FFQ had nine possible responses: never or less than once per month, 1-3 per month, 1 per week, 2-4 per week, 5-6 per week, 1 per day, 2-3 per day, 4-5 per day and 6 or more per day. A commonly used serving size was specified for each food item in the FFQ. The response to each food item in the FFQ was converted to average daily intake in grams of foods for each participant. We estimated the mean daily consumption for 18 foods groups by grouping the intake of specific foods in the FFQ (**Table 1**).

24 hours recall

A minimum of three and a maximum of nine 24HR were administered to each participant on non-consecutive days during one year. A nutritionist carried out unannounced telephone interviews once every two months, including a weekend day, to cover any seasonal and week variations in dietary habits of the participants. The interviewer requested participants to recall

all food and drink consumed over the previous 24 hours. Portions were carefully estimated by use of household measures and a detailed description of the food and method of preparation. The data collected was converted in units of weight and volume using published sources for foods (Palma et al., 2008).

Nutrient values of the food items from the FFQ and the 24HR were mainly obtained from the US Department of Agriculture food-composition tables (USDA, 2010) and other tables published for Spanish foods (Palma et al., 2008). With this information, we multiplied the frequency of use for each food items by the nutrient composition of the portion size to estimate the mean daily nutrient intake in each individual in each dietary method. Also, we calculated the average nutrients values of the two administrations of the FFQ (FFQav) and the average of the 24HR (24HRav) for each subject.

Biochemical Biomarkers

Fasting blood samples were obtained from 105 participants at the same time as the first FFQ and analyzed in a central laboratory (Puerta de Hierro Hospital, Madrid). A protocol was designed to collect, to process and to storage the blood samples for vitamin C, γ -tocopherol and carotenoids (lutein+zeaxanthin, β - cryptoxanthin, lycopene, α - carotene, β - carotene, retinol). Blood samples were collected in containers with etilendiaminotetraacetic acid (EDTA), separated by centrifugation and stored at -80° C. The blood samples for analyzing vitamin C were stabilized with meta-phosphoric acid and they were wrapped in tin foil to avoid light and oxygen degradation. Blood samples packed in dry ice were shipped to the central laboratory by dedicated couriers. Plasma cholesterol was measured, to adjust carotenoid concentrations, at the General Biochemistry and Hematology Laboratories of the hospital according to routine quality-controlled standard methods.

Samples were analyzed by a quality-controlled high performance liquid chromatography method used for the simultaneous determination of retinol and α -tocopherol), which also allows the separation and quantification of individual carotenoids (Granado-Lorencio et al., 2006). The validity of the high-performance liquid chromatography method is contrasted periodically through our participation in the Fat-Soluble Quality Assurance Programme (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA).

Ascorbic acid was determined by chromatographic analysis and was performed using a C18 μ Bondapak column (Waters, USA) and eluted with methanol (50%) and water (50%) containing acetic acid buffer and N-cetil-trimetil-ammonium bromide at a flow rate of 1 ml/min. Detection was performed by photodiode array detector set at 254 nm. Between-day variability was $< 8\%$ and quality control was contrasted by participating in the Vitamin C Quality Assurance Programme conducted by NIST (MD, USA).

Statistical Analysis

Data analyses were performed with R 2.14.1 (R Foundation for Statistical Computing, Madrid, Spain, <http://www.r-project.com>). We calculated means and standard deviations for total nutrients and food group's intake-from the FFQ, the 24HR and for levels of BM. We used paired Student's test for means comparison of the individual daily nutrients intakes and food consumption between the two FFQs and between the FFQav and the 24HRav.

In order to improve normality all nutrients and food groups intakes were log-transformed. Energy-adjusted intakes were computed using the residual method, where each nutrient is regressed on total calories, and the population mean was then added back to the calculated residuals (Willett et al., 1985). Since most carotenoids are transported in plasma lipoproteins, plasma concentrations of carotenoids and vitamin E were also adjusted per plasma cholesterol concentrations using the residual method.

To assess the reproducibility of the FFQ, it was estimated Pearson correlations (r) to compare the individual non-energy and energy-adjusted dietary intakes of nutrients and foods reported from the first and second FFQ.

Pearson correlations (r) were also used to evaluate the validity of the FFQ by comparing individual non-energy and energy-adjusted dietary intakes derived from the FFQav and the individual energy-adjusted dietary intakes derived from the 24HR. Pearson correlations were also used to evaluate the validity of the FFQ by comparing individual non-energy and energy-adjusted dietary intakes from the first FFQ and their respective plasma concentrations for vitamin C, E, and carotenoids (α - carotene, β - carotene, lutein + zeaxanthin, lycopene and β -cryptoxanthin).

Spearman correlation coefficients were also estimated although the results were very similar to those observed for parametric correlations.

The percentage of agreement was calculated by dividing into five categories relating to the distribution of dietary intake and we compared the subject's categories estimating whether the individuals were classified by both methods in the same or adjacent quintile.

RESULTS

The main characteristics of the 1165 university students distinguished by participants and non-participants in the validation study were shown in Table 2. The participants in the validation study were 24 years old, 75.7% of participants were females, 10.7 % declared to be current smokers, 56.1% declared to be sedentary or very low active, 89.6% declared to have excellent or good health and 13.1 % were on excess of weight. No significant differences were observed between the participants and non-participants in the validation study, with an exception of age and smoking status. The energy and macronutrients were very similar between participants and non-participants at the baseline.

Reproducibility

Mean daily intakes of nutrients and food groups based on the FFQs and Pearson correlation coefficients for nutrients are presented in Table 3. In general, intakes of energy and most of nutrients were lower in the second FFQ, although some carotenoids (α - carotene, β - carotene and lutein+zeaxanthin) and alcohol showed higher intakes in the second FFQ but there were not statistical significant differences. Correlation coefficients ranged from $r=0.39$ (zinc) to $r=0.78$ (alcohol). The average of correlation coefficients was 0.53. When the analysis is based on energy adjusted nutrient intakes, the magnitude of correlation coefficients for most nutrients was very similar.

Table 3 also shows the mean daily intake of 18 food groups. The mean intake of six food groups estimated by the first FFQ were lower than by the second FFQ (white meat, lean fish, nuts, legumes, potatoes and bread) but there were not statistical significant differences. Pearson correlation coefficients ranged from 0.38 (red meat) to $r=0.74$ (sweetened beverages) and the average of the coefficients was $r=0.54$ (all of the coefficients values $p<0.01$). The correlation coefficients did not improve when adjusting for energy intake.

According to classification into quintiles of nutrient intakes as estimated by the two FFQ, between 63.9% (Calcium) and 89.9% (alcohol) of individuals were classified in the same or adjacent quintile (Table 3). Regarding the intake of food groups, between 65.1% (red meat) and 98.8% (eggs) of individuals were classified in the same or adjacent quintiles by both FFQ.

Validity

The mean intakes of nutrients were higher for the FFQav than for the 24HR, except for total carbohydrates, α -carotene, vitamin B6, vitamin D and iron. Pearson correlation coefficients ranged from $r=0.10$ (vitamin B12) to $r=0.60$ (β - carotene). The average of the correlation coefficients was $r=0.41$. When the analysis was based on energy adjusted nutrient intakes some correlations improved slightly although some correlation coefficients were no longer significant (iron and zinc). The adjusted energy Pearson correlation coefficients ranged from $r=0.04$ (Iron) to $r=0.60$ (β - carotene) the average of correlation coefficients was $r=0.42$. According to classification into quintiles of nutrient intakes as estimated by the FFQav and the average of the 24HR between 53.3% (vitamin B12) and 72.2% (β - carotene) of individuals were classified in the same or adjacent quintile (Table 4). When correlation analyses were performed by categories of variables such as sex, smoking status, self-rated health and excess of weight correlations remained practically unchanged (data not shown).

Table 5 shows the mean daily intake for eight nutrients, they plasma concentration and the correlation coefficients between the first FFQ and BM. Pearson correlation coefficients ranged from $r=0.08$ (vitamin E) to $r=0.42$ (β - Cryptoxanthin, β - carotene). The average correlation coefficient was $r=0.29$. The correlation coefficients based on energy-adjusted nutrient intakes and cholesterol-adjusted plasma concentrations were similar to the unadjusted data. The lowest coefficient was observed for vitamin E ($r=0.10$), the higher coefficient was observed for β -

carotene ($r = 0.40$). When comparing the intake of fruits & vegetables derived from the first FFQ and the plasma concentration of carotenoids (Carotenoids sum of α - carotene, β - carotene, Lutein + Zeaxanthin, β - Cryptoxanthin) Pearson correlation coefficient was $r=0.41$ (unadjusted data) and $r=0.42$ (adjusted data). According to classification into quintiles of nutrient intakes as estimated by the FFQ1 and BM, between 54.3% (vitamin E, lycopene) and 68.6% (β - Cryptoxanthin) of individuals were classified in the same or adjacent quintile (Table 5).

When the analysis of validity of FFQ1 against BM was performed according to the participants classified in excess of weight the average of correlation coefficients ($n=91$, $r=0.31$) were higher than considering all individual ($n=106$, $r=0.29$) (data not shown). We also analyzed if date of blood extraction influenced on correlation coefficients. In general the average of correlation were slightly higher with blood samples extracted in winter and autumn ($n=79$, $r=0.35$) (data not shown).

DISCUSSION

The results of this study indicate that the FFQ is a reasonably good method for dietary assessment among young adults in a Mediterranean Spanish population. The FFQ showed a good degree of reproducibility for most of the nutrient and food intakes (average of correlation coefficients for nutrients $r= 0.53$; and for foods $r= 0.54$) and an acceptable validity when comparing FFQ against several 24HR (average of correlation coefficients $r=0.41$) and BM (average of correlation coefficients $r=0.29$).

Overall, our FFQ was shown to be a reliable tool among Mediterranean Spanish young adult due to the correlation coefficients for reproducibility of nutrients and food groups were above 0.4. A limited number of previous studies have assessed the reproducibility of FFQ and a few of them were conducted with young people, therefore the difficulty to compare this results with a previous literature in this stage of the life. In an Australian study with young adults students the average of reproducibility coefficients was higher than in our study, this may be due to a short period for the comparison between FFQ1 and FFQ2 (1 week) and it may explain this higher reproducibility coefficients for the nutrients considered (Hebden et al., 2013). Other previous validation studies of FFQ in adult for a period of one year (Fernández-Ballart et al., 2010; Rodríguez et al., 2008; Selem et al., 2014) showed similar correlations to our study. Moreover, other studies with Mediterranean population showed similar correlations to our study (Vioque et al., 2013). As in our study, alcoholic drinks showed a correlation coefficient above 0.8 (Fernández-Ballart et al., 2010). The main differences between reproducibility coefficients for food groups in different studies may be due to this different aggrupation, and the different time frame on evaluating de reproducibility, in fact studies with short time frame had better correlation coefficients (Erkkola et al., 2001).

The validity of our FFQ as assessed by biomarkers and 24HR, an acceptable validity was show in our study, the average of correlation coefficients when comparing FFQ against several 24HR

was 0.41 and was 0.29 when comparing FFQ against BM. Other validation studies used dietary records (DR) as reference method and the correlation coefficients for validity were in general higher than in our study (Bertoli et al., 2005; Fernández-Ballart et al., 2010; Fregapane and Asensio-García, 2000; Friis et al., 1997; McNaughton et al., 2005; Pinto et al., 2010; Uenishi et al., 2008; Willett et al., 1985). These differences may be due to that the use of dietary records as gold standard reflects more accurately the true intake of individual, but the characteristics of the study made more feasible, non-cost and easy to use 24HR as reference method. In addition to, it has suggested that the use of dietary records may induce changes in diet. We think that the 24HR collected in the conditions of the study made this reference method a valid and accurate tool on representing the true intake of individuals. We think that the use of only one 24HR can lead to wrong classification of individuals, therefore it was used a minimum of three and a maximum of nine 24HR (Ma et al., 2009) during one year period, and 24HR were carried out unscheduled telephone interviews every two months on different days of the week what tends to reduce the within-subject variability, to minimize the possible influence of the day of the week variability and to register the seasonal variation. Overall, the validity coefficients between dietary intake of the FFQav and the 24HR in our study were similar to those observed in other studies (Fregapane and Asensio-García, 2000; Rockett et al., 1997; Rodríguez et al., 2008) and the correlation coefficients estimated for the FFQ are located in the middle range commonly observed in similar studies that used 24HR as the reference method, which typically range between 0.30 and 0.70 (Willett, 2009). On this way a Spanish study with university students found very similar but lower r for validity against 24HR (Aguirre-Jaime et al., 2008). A possible explication of these differences may be that the use of a comprehensive FFQ with 5 different serving sizes may overestimate the intake of food and nutrients. We found low correlation coefficient between FFQav and 24HRav for vitamin B12 ($r = 0.10$, $p < 0.05$) that coincided with a similar study in a Spanish population in which the authors used a short FFQ validated with three 24HR and also found low correlations for this nutrient (Rivas et al., 2009). In the same way, we obtained a low correlation coefficient for retinol ($r=0.12$, $p>0.05$) same results were obtained in a Spanish study were the correlation coefficient was also low ($r=0.158$, $p>0.05$) (Rodríguez et al., 2008). We think FFQ did not represent at all the food rich in vitamin B12 as we did not take into account the intake of supplements (Vioque et al., 2013).

Regarding the relative validity of the FFQ as assessed by BM, poor correlations were found between dietary intake and plasma concentrations of retinol and vitamin E (**Table 5**), but this correlations were similar to previous studies in general population (Signorello et al., 2010; Vioque et al., 2007). The vitamin E (α - tocopherol) showed a poor correlation ($r=0.08$), it has been suggested that plasma concentration may not be a good marker for usual nutrient intake and that other tissues (e.g., adipose tissue) may better represent usual vitamin E intake (Hunter, 1998). When the analysis of validity against BM was performed according to the BMI, all the

correlation coefficients for individuals on under/norm-weight improve (except for retinol that was similar), it may be due to different distribution between adipose tissue and blood of some BM on individuals with no excess of weight and excess of weight (Burrows et al., 2009; van Vliet, 1996; Vioque et al., 2007) (data not shown). Similarly, when the analysis of validity against BM was performed according to the season of the year, all correlation coefficients improve for samples taken on autumn and winter (except for α -carotene that was similar), one possible explanation is the seasonal consumption of certain foods rich in carotenoids (Willett, 1998) (data not shown). Despite the fact that some correlations were low, correlation coefficients were very close to those observed in studies that used BM as gold standard (Jackson et al., 2011; Johansson et al., 2002; Signorello et al., 2010; Vioque et al., 2007). These results suggest that the FFQ may be valid to estimate of long-term intakes and rank young adults according to their intakes for relevant nutrients.

Limitations

The validation of the FFQ is large processes which involve a one-year in our study, and require the cooperation from the subjects, therefore, those who were not randomly chosen may tend to respond more accurately to FFQ and 24HR or have different dietary habits from non-participants. Although when we compared the characteristics of the participants and non-participants including in the validation study there were not important differences in the general characteristics and in the macro nutrient intake.

The FFQ and the 24HR are based on memory and the major sources of error in the FFQ are likely to be replicated in the 24HR and this can lead to correlations on the measurement error. But the FFQ is based on generic memory (habit) and 24HR is based on episodic memory (recent), both of them are based on different sources of memory and we think this characteristic minimize the possible artificial correlations. In addition to, the use of a gold standard with an independent measurement errors as the BM improve the validity of the questionnaire.

Conclusion

In summary, the FFQ showed a good degree of reproducibility for most of the foods and nutrient intakes, and an acceptable relative validity for some nutrients (less valid on measuring vitamin B12) to assess the diet in Mediterranean Spanish young adults.

References:

Aguirre-Jaime, A., Cabrera de León, A., Domínguez Coello, S., Borges Alamo, C., Carrillo Fernández, L., Gavilán Batista, J.C., Rodríguez Pérez, M.D.C., Almeida González, D., 2008. [Validation of a food intake frequency questionnaire adapted for the study and monitoring of the adult population of the Canary Islands, Spain]. *Rev. Esp. Salud Pública* 82, 509–518.

Barrios-Vicedo, R., Navarrete-Muñoz, E.M., García de la Hera, M., González-Palacios, S., Valera-Gran, D., Checa-Sevilla, J.F., Gimenez-Monzo, D., Vioque, J., 2014. [A lower adherence to Mediterranean diet is associated with a poorer self-rated health in university population]. *Nutr. Hosp.* 31, 785–792.

Bertoli, S., Petroni, M.L., Pagliato, E., Mora, S., Weber, G., Chiumello, G., Testolin, G., 2005. Validation of food frequency questionnaire for assessing dietary macronutrients and calcium intake in Italian children and adolescents. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 40, 555–560.

Bingham, S.A., 2002. Biomarkers in nutritional epidemiology. *Public Health Nutr.* 5, 821–827.

Burrows, T.L., Warren, J.M., Colyvas, K., Garg, M.L., Collins, C.E., 2009. Validation of Overweight Children's Fruit and Vegetable Intake Using Plasma Carotenoids. *Obesity* 17.

Cade, J., Thompson, R., Burley, V., Warm, D., 2002. Development, validation and utilisation of food-frequency questionnaires - a review. *Public Health Nutr* 5, 567–87.

Erkkola, M., Karppinen, M., Javanainen, J., Räsänen, L., Knip, M., Virtanen, S.M., 2001. Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire for pregnant Finnish women. *Am. J. Epidemiol.* 154, 466–476.

Estruch, R., Ros, E., Salas-Salvadó, J., Covas, M.-I., Corella, D., Arós, F., Gómez-Gracia, E., Ruiz-Gutiérrez, V., Fiol, M., Lapetra, J., Lamuela-Raventós, R.M., Serra-Majem, L., Pintó, X., Basora, J., Muñoz, M.A., Sorlí, J.V., Martínez, J.A., Martínez-González, M.A., PREDIMED Study Investigators, 2013. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N. Engl. J. Med.* 368, 1279–1290.

Fernández-Ballart, J.D., Piñol, J.L., Zazpe, I., Corella, D., Carrasco, P., Toledo, E., Perez-Bauer, M., Martínez-González, M.A., Salas-Salvadó, J., Martín-Moreno, J.M., 2010. Relative validity of a semi-quantitative food-frequency questionnaire in an elderly Mediterranean population of Spain. *Br. J. Nutr.* 103, 1808–1816.

Fregapane, G., Asensio-García, C., 2000. Dietary assessment of an educated young Spanish population using a self-administered meal-based food frequency questionnaire. *Eur. J. Epidemiol.* 16, 183–191.

Friis, S., Kruger Kjaer, S., Stripp, C., Overvad, K., 1997. Reproducibility and relative validity of a self-administered semiquantitative food frequency questionnaire applied to younger women. *J. Clin. Epidemiol.* 50, 303–311.

Granado-Lorencio, F., Olmedilla-Alonso, B., Herrero-Barbudo, C., Blanco-Navarro, I.,

- Blázquez-García, S., Pérez-Sacristán, B., 2006. Simultaneous determination of vitamins A, E and 25-OH-vitamin D: application in clinical assessments. *Clin. Biochem.* 39, 180–182.
- Hebden, L., Kostan, E., O’Leary, F., Hodge, A., Allman-Farinelli, M., 2013. Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire as a measure of recent dietary intake in young adults. *PLoS One* 8, e75156.
- Henriquez-Sanchez, P., Sanchez-Villegas, A., Doreste-Alonso, J., Ortiz-Andrellucchi, A., Pfrimer, K., Serra-Majem, L., 2009. Dietary assessment methods for micronutrient intake: a systematic review on vitamins. *Br J Nutr* 102 Suppl 1, S10–37.
- Hunter, D., 1998. *Biochemical indicators of dietary intake*. Oxford University Press, New York, Oxford.
- Jackson, M.D., Walker, S.P., Younger, N.M., Bennett, F.I., 2011. Use of a food frequency questionnaire to assess diets of Jamaican adults: validation and correlation with biomarkers. *Nutr. J.* 10, 28.
- Jenab, M., Slimani, N., Bictash, M., Ferrari, P., Bingham, S.A., 2009. Biomarkers in nutritional epidemiology: applications, needs and new horizons. *Hum. Genet.* 125, 507–525.
- Johansson, I., Hallmans, G., Wikman, A., Biessy, C., Riboli, E., Kaaks, R., 2002. Validation and calibration of food-frequency questionnaire measurements in the Northern Sweden Health and Disease cohort. *Public Health Nutr.* 5, 487–496.
- Kaaks, R.J., 1997. Biochemical markers as additional measurements in studies of the accuracy of dietary questionnaire measurements: conceptual issues. *Am. J. Clin. Nutr.* 65, 1232S–1239S.
- Martínez-Moyá, M., Navarrete-Muñoz, E.M., García de la Hera, M., Giménez-Monzo, D., González-Palacios, S., Valera-Gran, D., Sempere-Orts, M., Vioque, J., 2014. [Association between hours of television watched, physical activity, sleep and excess weight among young adults]. *Gac. Sanit. SESPAS* 28, 203–208.
- Martin-Moreno, J.M., Boyle, P., Gorgojo, L., Maisonneuve, P., Fernandez-Rodriguez, J.C., Salvini, S., Willett, W.C., 1993. Development and validation of a food frequency questionnaire in Spain. *Int. J. Epidemiol.* 22, 512–519.
- Ma, Y., Olendzki, B.C., Pagoto, S.L., Hurley, T.G., Magner, R.P., Ockene, I.S., Schneider, K.L., Merriam, P.A., Hébert, J.R., 2009. Number of 24-hour diet recalls needed to estimate energy intake. *Ann. Epidemiol.* 19, 553–559.
- McNaughton, S.A., Marks, G.C., Gaffney, P., Williams, G., Green, A., 2005. Validation of a food-frequency questionnaire assessment of carotenoid and vitamin E intake using weighed food records and plasma biomarkers: the method of triads model. *Eur. J. Clin. Nutr.* 59, 211–218.
- Miller, A.B., Altenburg, H.-P., Bueno-de-Mesquita, B., Boshuizen, H.C., Agudo, A., Berrino, F., Gram, I.T., Janson, L., Linseisen, J., Overvad, K., Rasmuson, T., Vineis, P.,

Lukanova, A., Allen, N., Amiano, P., Barricarte, A., Berglund, G., Boeing, H., Clavel-Chapelon, F., Day, N.E., Hallmans, G., Lund, E., Martinez, C., Navarro, C., Palli, D., Panico, S., Peeters, P.H.M., Quirós, J.R., Tjønneland, A., Tumino, R., Trichopoulou, A., Trichopoulos, D., Slimani, N., Riboli, E., Palli, D., 2004. Fruits and vegetables and lung cancer: Findings from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int. J. Cancer* 108, 269–276.

Nelson, M.C., Story, M., Larson, N.I., Neumark-Sztainer, D., Lytle, L.A., 2008. Emerging adulthood and college-aged youth: an overlooked age for weight-related behavior change. *Obes. Silver Spring Md* 16, 2205–2211.

Ortiz-Andrellucchi, A., Henriquez-Sanchez, P., Sanchez-Villegas, A., Pena-Quintana, L., Mendez, M., Serra-Majem, L., 2009. Dietary assessment methods for micronutrient intake in infants, children and adolescents: a systematic review. *Br. J. Nutr.* 102.

Eva María Navarrete-Muñoz, Desirée Valera-Gran, Sandra Gonzalez-Palacios, Manoli García de la Hera, Daniel Gimenez-Monzo, Laura Torres-Collado, Jesus Vioque. El Estudio DiSA-UMH: Estudio de cohorte prospectivo en estudiantes de ciencias de la salud de la Universidad Miguel Hernández. *Rev Esp Nutr Hum Diet.* 2016; 20(1): 69 - 76

Palma, Farran, Cantos, 2008. Tablas de composición de Alimentos por medidas caseras de consumo habitual en España. CESNID. MADRID. Mc Graw Hill Interamerican.

Pinto, E., Severo, M., Correia, S., dos Santos Silva, I., Lopes, C., Barros, H., 2010. Validity and reproducibility of a semi-quantitative food frequency questionnaire for use among Portuguese pregnant women. *Matern. Child. Nutr.* 6, 105–119.

Rivas, A., Romero, A., Mariscal, M., Monteagudo, C., Hernández, J., Olea-Serrano, F., 2009. [Validation of questionnaires for the study of food habits and bone mass]. *Nutr. Hosp. Organo Of. Soc. Esp. Nutr. Parenter. Enter.* 24, 521–528.

Rockett, H.R.H., Breitenbach, M., Frazier, A.L., Witschi, J., Wolf, A.M., Field, A.E., Colditz, G.A., 1997. Validation of a youth/adolescent food frequency questionnaire. *Prev. Med.* 26, 808–816.

Rodríguez, I.T., Ballart, J.F., Pastor, G.C., Jordà, E.B., Val, V.A., 2008. [Validation of a short questionnaire on frequency of dietary intake: reproducibility and validity]. *Nutr. Hosp. Organo Of. Soc. Esp. Nutr. Parenter. Enter.* 23, 242–252.

Rutishauser, I.H.E., 2005. Dietary intake measurements. *Public Health Nutr.* 8, 1100–1107.

Savane, F.R., Navarrete-Muñoz, E.M., García de la Hera, M., Gimenez-Monzo, D., Gonzalez-Palacios, S., Valera-Gran, D., Sempere-Orts, M., Vioque, J., 2013. [Validation of self-reported weight and height university population and factors associated with differences between self reported and measured antropometrics]. *Nutr. Hosp.* 28, 1633–1638.

Selem, S.S. de C., Carvalho, A.M. de, Verly-Junior, E., Carlos, J.V., Teixeira, J.A.,

Marchioni, D.M.L., Fisberg, R.M., 2014. Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire for adults of São Paulo, Brazil. *Rev. Bras. Epidemiol. Braz. J. Epidemiol.* 17, 852–859.

Shim, J.-S., Oh, K., Kim, H.C., 2014. Dietary assessment methods in epidemiologic studies. *Epidemiol. Health* 36, e2014009.

Signorello, L.B., Buchowski, M.S., Cai, Q., Munro, H.M., Hargreaves, M.K., Blot, W.J., 2010. Biochemical validation of food frequency questionnaire-estimated carotenoid, alpha-tocopherol, and folate intakes among African Americans and non-Hispanic Whites in the Southern Community Cohort Study. *Am. J. Epidemiol.* 171, 488–497.

Spencer, E.H., Elon, L.K., Hertzberg, V.S., Stein, A.D., Frank, E., 2005. Validation of a brief diet survey instrument among medical students. *J. Am. Diet. Assoc.* 105, 802–806.

Thorp, A.A., Owen, N., Neuhaus, M., Dunstan, D.W., 2011. Sedentary behaviors and subsequent health outcomes in adults a systematic review of longitudinal studies, 1996-2011. *Am. J. Prev. Med.* 41, 207–215.

Uenishi, K., Ishida, H., Nakamura, K., 2008. Development of a simple food frequency questionnaire to estimate intakes of calcium and other nutrients for the prevention and management of osteoporosis. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* 54, 25–29.

USDA, 2010. U.S. Department of Agriculture. Agricultural Research Service 2010 USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 23. Nutrient Data Laboratory Homepage, <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>.

Van Vliet, T., 1996. Absorption of beta-carotene and other carotenoids in humans and animal models. *Eur. J. Clin. Nutr.* 50 Suppl 3, S32–37.

Vioque, J., Gonzalez, L., 1991. Validity of a food frequency questionnaire (preliminary results). *Eur J Cancer Prev* 1, 19–20.

Vioque, J., Navarrete-Muñoz, E.-M., Gimenez-Monzó, D., García-de-la-Hera, M., Granado, F., Young, I.S., Ramón, R., Ballester, F., Murcia, M., Rebagliato, M., Iñiguez, C., 2013. Reproducibility and validity of a food frequency questionnaire among pregnant women in a Mediterranean area. *Nutr. J.* 12, 26.

Vioque, J., Weinbrenner, T., Asensio, L., Castelló, A., Young, I.S., Fletcher, A., 2007. Plasma concentrations of carotenoids and vitamin C are better correlated with dietary intake in normal weight than overweight and obese elderly subjects. *Br. J. Nutr.* 97, 977–986.

Vioque, J., Weinbrenner, T., Castello, A., Asensio, L., de la Hera, M.G., 2008. Intake of fruits and vegetables in relation to 10-year weight gain among Spanish adults. *Obesity* 16.

Willett, W., 2009. Foreword. The validity of dietary assessment methods for use in epidemiologic studies. *Br. J. Nutr.* 102 Suppl 1, S1–2.

Willett, W., 1998. *Nutritional Epidemiology*. Oxford University Press.

Willett, W.C., Sampson, L., Stampfer, M.J., Rosner, B., Bain, C., Witschi, J.,

Hennekens, C.H., Speizer, F.E., 1985. Reproducibility and validity of a semiquantitative food frequency questionnaire. *Am. J. Epidemiol.* 122, 51–65.

Table1. Definition of food groups

Food groups	Foods
Dairy Products (9)	whole milk; semi-skimmed milk; skimmed or low fat milk; whole and low fat cheeses; custard, flan, pudding; ice-cream
White meat (2)	chicken with; and without skin
Red meat (3)	Beef, pork, lamb; liver; hamburger
Processed meat (3)	ham, salami and others; sausages; pate
Lean fish (2)	assorted or mixed fried fish; hake, sole and similar white fish type
Fatty fish (2)	Sardines, tuna fresh, swordfish; canned tuna, mackerel, anchovies, sardine with oil
Seafood (4)	clams, mussels; squid, octopus; shellfish (cramps, shrimps, lobster); surimi and other fish-based food products
Vegetables (12)	spinach; cabbage, cauliflower or broccoli; lettuce or endive; tomatoes; onions; carrots or squash; green beans; eggplant, zucchini, or cucumber; green, red, or yellow peppers; artichokes; asparagus; and garlic
Fruits (10)	oranges; orange juice; bananas; apples or pears; peaches, nectarines, or apricots; watermelon or melon; grapes; prunes or plums; kiwis; olives
Cereals And Pasta (3)	Corn; rice; pasta
Potatoes (3)	fried; cooked; chips
Bread (2)	white and whole breads
Sweets and sugar (7)	biscuits; cookies; baked goods; added sugar; marmalade, honey; chocolate; chocolate/cocoa powder
Sweetened beverages (3)	Canned/concentrated juice; soda and cola; light soda
Vegetable Fat (4)	Olive oil; sunflower, corn oils; margarine; mayonnaise

Table 2. Characteristics of participant university students of the DiSA-UMH (n=1165)

Variables	Validation study n=169	No validation study n=996	<i>p-value</i> ^a
Age (years), mean (sd)	24.1 (2.3)	22.8 (3.1)	<0.001
Sex, % (n)			0.267
Men	24.3 (41)	28.5 (289)	
Women	75.7 (128)	71.5 (712)	
Smoking statuts, % (n)			<0.001
Yes	10.7 (18)	13.2 (131)	
No	89.3 (151)	86.8 (865)	
Self-reported physical activity, % (n)			0.735
Sedentary or very low active	56.1 (92)	54.6 (533)	
Moderately, quite or very active	43.9 (72)	45.4 (444)	
Missing data	5	19	
Self-rated health, % (n)			0.893
Excellent or good	89.6 (146)	88.9 (869)	
Fair, poor or very poor r	10.4 (17)	11.1 (109)	
Missing data	6	18	
Excess of weight, % (n)			0.720
No (BMI<25)	86.9 (146)	85.6 (827)	
Yes (BMI≥25)	13.1 (22)	14.4 (139)	
Missing data	1	30	
Energy (Kcal/day), mean (sd)	2021 (526)	2052 (626)	0.539
Carbohydrates (g/day), mean (sd)	215 (80)	215 (76)	0.884
Proteins (g/day), mean (sd)	88 (22)	92 (29)	0.080
Fats (g/day), mean (sd)	91 (26)	92 (34)	0.739
Fiber (g/day), mean (sd)	21 (8.7)	20 (8.6)	0.611
Alcohol (g/day), mean (sd)	4.2 (5.3)	4.3 (6.2)	0.829

BMI Body Mass Index (kg/m²); ^a p values from t Student-test (continuous variables) and from Fisher test (categorical variables)

Table 3. Mean daily nutrient and food intakes and Pearson correlation coefficients (*r*) among university students of the DiSA-UMH Study (n=169)

Nutrientes (units/day)	FFQ1 ^a	FFQ2 ^a	p ^b	<i>r</i> FFQ1- FFQ2		Agreement (%) ^c
	Mean (SD)	Mean (SD)		Unadjusted ^c	Adjusted ^d	
Energy (kcal)	2021 (526)	1925 (535)	0.099	0.48		70.4
Protein (g)	88 (22)	85 (27)	0.240	0.44	0.47	70.4
Total carbohydrates (g)	215 (80)	203 (65)	0.148	0.60	0.44	78.1
Dietary fiber (g)	21 (8.7)	21 (7.8)	0.854	0.58	0.44	74.0
Cholesterol (mg)	281 (88)	265 (100)	0.144	0.42	0.38	65.1
Total fat (g)	91 (26)	87 (29)	0.146	0.42	0.57	68.6
SFA (g)	27 (8.9)	24 (9.3)	0.023	0.50	0.63	71.6
MUFA (g)	44 (14)	41 (15)	0.198	0.42	0.55	69.8
PUFA (g)	14 (5.0)	14 (5.7)	0.760	0.47	0.54	73.4
Omega 3 (g)	1.5 (0.4)	1.4 (0.5)	0.456	0.50	0.60	73.4
Omega 6 (g)	13 (4.7)	13 (5.4)	0.691	0.48	0.55	72.2
Retinol (µg)	735 (966)	615 (840)	0.223	0.50	0.48	77.5
α- carotene (µg)	521 (545)	564 (620)	0.505	0.58	0.53	74.6
β- carotene (µg)	3944 (2652)	3976 (2659)	0.910	0.62	0.55	75.7
β- Cryptoxanthin (µg)	267 (233)	245 (193)	0.336	0.55	0.50	75.1
Lutein+Zeaxanthin (µg)	2960 (2258)	2993 (2168)	0.892	0.66	0.61	83.4
Lycopene (µg)	4446 (3141)	4012 (2468)	0.159	0.42	0.41	72.2
Vitamin B6 (mg)	1.7 (0.6)	1.7 (0.6)	0.568	0.57	0.51	72.8
Folato (µg)	287 (115)	278 (102)	0.421	0.59	0.49	76.9
Vitamin B12 (µg)	9.5 (5.9)	8.8 (5.8)	0.234	0.50	0.46	75.7
Vitamin C (mg)	135 (96)	132 (82)	0.754	0.59	0.52	78.7
Vitamin D (µg)	3.4 (1.4)	3.4 (1.5)	0.783	0.59	0.59	77.5
Vitamin E (mg)	12 (4.3)	12 (4.5)	0.885	0.49	0.54	69.8
Calcium (mg)	1033 (379)	942 (344)	0.021	0.46	0.48	63.9
Iron (mg)	12 (3.4)	11 (3.7)	0.300	0.45	0.28	74.0
Magnesium (mg)	331 (102)	325 (101)	0.534	0.57	0.69	76.3
Potassium (mg)	3163 (1108)	3056 (1007)	0.350	0.63	0.61	76.3
Sodium (mg)	2691 (773)	2602 (813)	0.302	0.45	0.46	71.6
Zinc (mg)	11 (2.7)	10 (3.3)	0.126	0.39	0.27	69.8
Iodine (µg)	109 (44)	102 (43)	0.164	0.63	0.63	74.0
Alcohol (g)	4.2 (5.3)	4.3 (6.3)	0.854	0.78	0.77	89.9
<i>Average</i>				0.53	0.52	74.0
Foods (g/day)						
Dairy Products	399 (209)	360 (192)	0.073	0.64	0.65	74.0
Eggs	18 (9.9)	17 (8.4)	0.529	0.44	0.41	98.8
White meat	27 (18)	28 (19)	0.457	0.49	0.47	73.4
Red meat	42 (33)	42 (30)	0.904	0.38	0.40	65.1
Processed meat	31 (25)	28 (24)	0.264	0.63	0.61	79.3
Lean fish	27 (20)	31 (23)	0.086	0.54	0.48	69.2
Fatty fish	27 (23)	26 (22)	0.887	0.57	0.57	67.5
Seafood	12 (9.3)	11 (9.1)	0.570	0.55	0.56	75.1
Vegetables	260 (181)	249 (167)	0.568	0.56	0.48	73.4
Fruits	298 (270)	292 (218)	0.826	0.47	0.37	74.0
Nuts	6.0 (8.5)	6.8 (9.9)	0.390	0.50	0.48	87.6
Legumes	29 (27)	30 (27)	0.786	0.59	0.55	95.3
Cereals and pasta	100 (60)	92 (47)	0.172	0.49	0.47	72.2
Potatoes	46 (36)	47 (44)	0.702	0.47	0.44	71.0
Bread	74 (55)	75 (60)	0.922	0.44	0.48	68.0
Sweets and sugar	45 (36)	40 (33)	0.164	0.61	0.61	81.1
Swetened beverages	216 (274)	188 (212)	0.283	0.74	0.73	90.5
Vegetable Fat	29 (16)	28 (17)	0.618	0.53	0.62	70.4
<i>Average</i>				0.54	0.52	77.0

^a FFQ1 & FFQ2 administered with a difference of approximately 1 year; ^b P-value paired t-test; ^c Nutrient crude intakes were log-transformed; ^d Adjusted for total energy; ^e Overall percentage categorized in the same or an adjacent quintile; SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, Polyunsaturated fatty acids; all coefficients p<0.01.

Table 4. Mean daily food intakes by the average of the FFQs and the average of the 24HRs and Pearson Correlation coefficients (*r*) in university students (n=169)

Nutrients (units/day)	FFQav ^a	R24av ^b	p ^c	<i>r</i> FFQav ^a and 24HRav ^b		Agreement(%) ^f
	Mean (SD)	Mean (SD)		Unadjusted ^d	Adjusted ^e	
Energy (kcal)	1973 (456)	1803 (411)	<0.001	0.41		68.6
Protein (g)	87 (21)	85 (20)	0.512	0.44	0.56	69.8
Total carbohydrates (g)	209 (65)	214 (54)	0.424	0.46	0.51	65.1
Dietary fiber (g)	21 (7.4)	19 (6.3)	0.013	0.48	0.58	70.4
Cholesterol (mg)	273 (79)	259 (89)	0.116	0.42	0.32	63.9
Total fat (g)	89 (23)	68 (20)	<0.001	0.41	0.49	66.3
SFA (g)	26 (7.8)	21 (6.9)	<0.001	0.45	0.55	64.5
MUFA (g)	42 (12)	31 (9.7)	<0.001	0.42	0.49	69.2
PUFA (g)	14 (4.5)	11 (3.5)	<0.001	0.39	0.37	65.1
Omega 3 (g)	1.4 (0.4)	1.3 (0.5)	0.016	0.45	0.48	66.3
Omega 6 (g)	13 (4.2)	9.4 (3.1)	<0.001	0.39	0.36	68.6
Retinol (µg)	675 (746)	457 (377)	0.001	0.12*	0.07*	58.0
α- carotene (µg)	542 (515)	561 (563)	0.749	0.40	0.41	68.0
β- carotene (µg)	3960 (2401)	2907 (1955)	<0.001	0.60	0.60	72.2
β- Cryptoxanthin (µg)	256 (190)	190 (145)	<0.001	0.39	0.37	65.7
Lutein+Zeaxanthin (µg)	2976 (1945)	2092 (2432)	<0.001	0.53	0.51	67.5
Lycopene (µg)	4229 (2354)	2746 (2406)	<0.001	0.28	0.31	60.9
Vitamin B6 (mg)	1.7 (0.5)	2.2 (1.1)	<0.001	0.29	0.32	63.3
Folato (µg)	282 (96)	214 (85)	<0.001	0.46	0.50	67.5
Vitamin B12 (µg)	9.2 (4.8)	7.5 (4.4)	0.001	0.10*	0.07*	53.3
Vitamin C (mg)	133 (80)	118 (55)	0.040	0.51	0.54	68.0
Vitamin D (µg)	3.4 (1.3)	3.7 (1.6)	0.128	0.51	0.49	66.9
Vitamin E (mg)	12 (3.7)	8.4 (3.2)	<0.001	0.37	0.51	66.9
Calcium (mg)	988 (302)	817 (222)	<0.001	0.52	0.53	68.6
Iron (mg)	11.4 (3.0)	13 (4.6)	0.001	0.26	0.04*	60.4
Magnesium (mg)	328 (89)	296 (72)	<0.001	0.40	0.55	66.3
Potassium (mg)	3110 (952)	2846 (753)	0.005	0.48	0.57	69.8
Sodium (mg)	2647 (672)	2306 (580)	<0.001	0.46	0.35	71.6
Zinc (mg)	11 (2.5)	9.5 (3.0)	0.001	0.18**	0.05*	58.6
Iodine (µg)	106 (39)	89 (34)	<0.001	0.53	0.49	70.4
Alcohol (g)	4.3 (5.5)	1.8 (3.5)	<0.001	0.54	0.54	65.1
Average				0.41	0.42	66.0

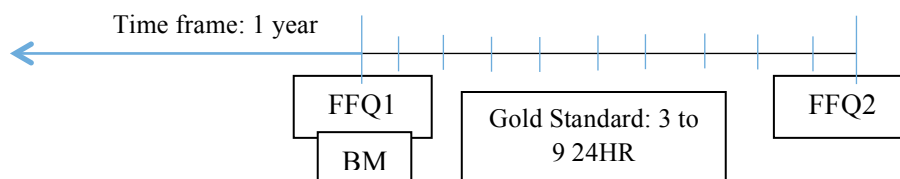
^a Average of FFQ1 and FFQ2; ^b Average of the 24HR; ^d Nutrient crude intakes were log-transformed; ^e Adjusted for total energy; ^f Overall percentage categorized in the same or an adjacent quintile; SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, Polyunsaturated fatty acids; *p>0.05, ** p<0.05 all other p<0.01

Table 5. Mean daily nutrient and food intakes by the first FFQ and nutrient plasma concentration and Pearson correlation coefficients (*r*) in university students (n=105).

Nutrients and foods	FFQ1	Plasma Concentration	<i>r</i> FFQ1 and plasma concentrations		Agreement (%) ^c
	Mean (SD)	Mean (SD)	<i>r</i> ^a	<i>r</i> ^b	
Vitamin E (µg/dl)	12 (3.8)	1312 (277)	0.08*	0.10*	54.3
Lutein + Zeaxanthin (µg/dl)	3072 (2299)	20 (9.9)	0.31	0.38	55.2
β- Cryptoxanthin (µg/dl)	264 (234)	17 (15)	0.42	0.37	68.6
Lycopene (µg/dl)	4762 (3092)	39 (17)	0.23**	0.22**	54.3
α- carotene (µg/dl)	585 (616)	6.7 (4.2)	0.35	0.37	61.9
β- carotene (µg/dl)	4157 (2771)	21 (14)	0.42	0.42	61.0
Retinol (µg/dl)	728 (965)	43 (12)	0.22**	0.19**	58.1
Vitamin C (µmol/l) [†]	133 (92)	31 (14)	0.25	0.25	63.1
<i>Average</i>			0.29	0.29	59.6
Fruits and vegetables (g/day) & Total carotenoids (µg/dl)	584 (426)	64 (32)	0.41	0.42	60.0

^a Nutrient intakes were log-transformed; ^b Adjusted for total energy and plasma carotenoids and vitamin E for total cholesterol; ^c Overall proportion categorized in the same or an adjacent quintile; ^d Carotenoids sum of α- carotene, β- carotene, Lutein + Zeaxanthin, β- Cryptoxanthin; [†] n=103 ; *p>0.05, ** p<0.05 all other p<0.01

Figure1. Validation study scheme



ANEXO III

Grupo EPINUT

El grupo de Epidemiología de la Nutrición (EPINUT), dirigido por el profesor Jesús Vioque, es fruto del desarrollo y confluencia de varias líneas de investigación con un interés común: el estudio de las relaciones dieta-enfermedad. El interés central es la mejora del conocimiento sobre las relaciones entre dieta y enfermedad, principalmente de tipo crónico-degenerativo. Se definen 6 grandes líneas con objetivos y proyectos relevantes:

- 1) Línea sobre Determinantes nutricionales de la salud. Proyectos (EUREYE Study para el estudio de Degeneración Macular de la retina en Europa financiado por el V Programa Marco-UE y FIS; Estudio PANESOES financiado por FIS y Generalitat Valenciana para analizar el efecto de la dieta sobre varios cánceres).
- 2) Línea para Identificación de factores ambientales y genéticos asociados a Obesidad. El objetivo general es estudiar la prevalencia de obesidad y ganancia de peso y los factores determinantes (Proyectos FIS 00/0985; FIS 07/0314) con publicaciones en Int J Obesity, Med-Clin; Obesity; Lancet).
- 3) Línea sobre Efecto de Contaminantes Ambientales en la salud humana. Proyecto Infancia y Medio Ambiente (Estudio INMA- CIBERESP). Proyecto multicéntrico multipropósito para evaluar el efecto de contaminantes medioambientales y la dieta en embarazadas y sus hijos. (<http://www.proyectoinma.org/>).
- 4) Línea para el Análisis de Género en problemas de salud relacionados con las conductas de riesgo en la alimentación y el VIH/SIDA. Liderado por M. García de la Hera para examinar las relaciones entre comportamientos saludables relacionados con conducta y trastornos de alimentación y conductas relacionadas con infección por VIH/SIDA.
- 5) Línea sobre la relación de la dieta, el exceso de peso corporal y otros estilos de vida sobre la supervivencia a medio y largo plazo. Esta línea está liderada por la profesora Manuela García de la Hera y examina el papel de la dieta y los estilos de vida en la supervivencia a medio y largo plazo de adultos mayores de 65 años de la Comunidad Valenciana, utilizando los datos basales de la Encuesta de Nutrición y Salud y EUREYE (FIS PI13/00654)
- 6) Línea sobre el efecto de una intervención intensiva sobre los estilos de vida a base de una dieta mediterránea tradicional con restricción calórica, actividad física y tratamiento conductual sobre la prevención de la enfermedad cardiovascular. PREDIMED-PLUS es un estudio multicéntrico, aleatorizado, de prevención primaria en hombres (55-75 años) y las mujeres (60-75 años), con un índice de masa corporal ≥ 27 y (www.predimedplus.es) EPINUT es nodo reclutador y el coordinador principal del nodo de Alicante es Dr. Jesús Vioque (FIS PI14/01206)

El grupo colabora en múltiples estudios: Encuesta de Nutrición y Salud de Orihuela 1992; Encuesta Valenciana de Salud y Nutrición 1994; OBESIGEN; EUREYE; PANESOES; Estudio

de cohorte Infancia y Medio Ambiente (Estudio INMA); Estudio “Dieta, Salud y Antropometría en población universitaria” (Estudio DiSA); Nodo reclutador en Predimed Plus); BIOMADRID; Determinantes Densidad; Mamográfica (Estudio DDM, ISCIII); CAPUA (Cáncer de Pulmón en Asturias); GEICAM; Relación entre Calidad del Semen y Fertilidad; Relación entre la ingesta de calcio y vitamina D y la densidad ósea en edad infantil en España.



Sandra González Palacios, Manuela García de la Hera, Alex Scholz, Laura Torres Collado, Amaia Beti Aguirrebengoa, Desirée Valera Gran, Laura Company Gabucio, Daniel Giménez Monzó, Eva María Navarrete Muñoz, Alejandro Oncina Cánovas, Jesús Vioque López, Jezabel Pérez Ramírez, Amaia Beti Aguirrebengoa.

Otros colaboradores: Tanja Weinbrenner (Doctora en Nutrición); Lorena Ivorra (Farmacéutica); Mabel Sánchez (Estadística); Clara Rodríguez (Odontóloga); María Dolores Climent (Nutricionista); Adela Castelló (Estadística); José Manuel Cámara (Informático); María Natividad Galiana Llorca (Farmacéutica); Ana Zaragoza (Nutricionista); María Martínez Moyá (Estudiante Medicina); María Sempere Orts (Estadística); José Francisco Checa Sevilla (Nutricionista); Ricardo Barrios Vicedo (Farmacéutico); Fatoumata Rostia Savanne (Médica)

Más información del grupo en: <http://bibliodieta.umh.es>

ANEXO IV

PROYECTO INMA

El desarrollo físico, social e intelectual de los niños, desde su concepción hasta la adolescencia requiere un ambiente protegido para favorecer el desarrollo de su salud.

Existe un número creciente de enfermedades en la infancia asociadas con un entorno contaminado. Las exposiciones prenatales y postnatales incluyendo la dieta se asocian con el desarrollo del niño y lo predisponen a posibles efectos adversos en la edad adulta.

Los niños son más vulnerables al entorno que los adultos. Los niños no son pequeños adultos sus sistemas están en formación, tienen una inmadurez inmunológica y de los mecanismos de detoxificación, lo que les hace especialmente vulnerables a los riesgos ambientales transmitidos por aire, agua, dieta y suelo.

El proyecto INfancia y Medio Ambiente (INMA) seguirá de manera prospectiva el desarrollo de unos 3500 recién nacidos desde la gestación hasta la adolescencia en varias áreas geográficas.

Se incluirán cohortes que ya se encuentran en marcha y otras de *novo*. El proyecto INMA pretende transferir metodología y conocimiento entre las distintas cohortes que trabajan en salud ambiental; describir el grado de contaminación individual de compuestos orgánicos persistentes y metales y el grado de exposición durante la gestación y la primera infancia; evaluar el impacto de la exposición a distintos contaminantes y los efectos protectores y negativos de la dieta sobre el crecimiento y el desarrollo del niño; y contrastar las hipótesis generadas de otras cohortes en existentes.

Factores nutricionales, biológicos, ambientales y psicosociales durante la gestación y después del nacimiento serán evaluados. Los efectos incluirán el desarrollo intrauterino, el desarrollo neuroconductual, la inmunidad, y la disrupción hormonal.

Objetivos Generales:

1. Compartir metodologías y conocimientos entre diversos grupos españoles que estudian los efectos del medio ambiente en la salud infantil.
2. Describir el nivel de contaminación y de exposición de los niños durante la gestación y la primera infancia.
3. Evaluar el papel de los contaminantes ambientales mayoritarios y los factores protectores de la dieta en el crecimiento fetal y el desarrollo neuro-endócrino-inmunitario.
4. Proveer información útil para la confección de programas de indicadores de salud ambiental y de evaluación de riesgos.

Objetivos Específicos:

- Describir los niveles de metales pesados y compuestos orgánicos persistentes al nacer, la carga de disruptores hormonales, y los niveles de contaminación del interior de las casas y de trihalometanos en agua del grifo durante el primer año de vida en varias zonas geográficas.
- Medir la asociación entre los niveles de contaminación atmosférica del interior, del

agua y los niveles de compuestos orgánicos persistentes y el desarrollo intrauterino y el crecimiento antropométrico durante el primer año de vida.

- Medir el papel de la nutrición y la lactancia materna en la asociación entre la exposición a contaminantes y los efectos sobre la salud infantil durante el primer año de vida. Analizar el papel de los distintos alimentos en la dosis interna de compuestos orgánicos persistentes y metales pesados.

- Medir el papel de la disrupción hormonal en la asociación entre los niveles de compuestos orgánicos persistentes al nacer y el desarrollo neuroconductual y sexual durante los primeros 4 años de vida.

- Medir la asociación entre la exposición prenatal y postnatal a contaminantes atmosféricos y del agua y a compuestos orgánicos persistentes y metales pesados y los niveles de inmunoglobulinas a los 4 años de edad.

- Medir la asociación de las exposiciones ambientales al inicio de la vida con la función neurofisiológica a los 7 años.

Objetivos secundarios:

- Promover la formación de los investigadores en comunicación científica con el fin de favorecer la educación ambiental.

- Proveer información útil para la confección de programas de indicadores de salud ambiental y la evaluación del riesgo.

- Promover la participación de la red en proyectos europeos del 6 programa marco.

Web del proyecto: <http://www.proyectoinma.org/>

Bibliografía general del proyecto

Núria Ribas-Fitó, Rosa Ramón, Ferran Ballester, Joan Grimalt, Alfredo Marco, Nicolás Olea, Manuel Posada, Marisa Rebagliato, Adonina Tardón, Maties Torrent, Jordi Sunyer on behalf of the INMA Study Group. *Environment and Child's Health: The INMA Spanish Study*. *Paediatr and Perinat Epidemiology* 2006; 20:403-410.

Rosa Ramón, Ferran Ballester, Marisa Rebagliato, Núria Ribas, Maties Torrent, Marieta Fernández, Maria Sala, Adonina Tardón, Alfredo Marco, Manuel Posada, Joan Grimalt, Jordi Sunyer, en nombre de la Red INMA. La Red de Investigación 'Infancia y Medio Ambiente' (Red INMA): protocolo de estudio. *Revista Española de Salud Pública* 2005; 79:203-20:

Fernandez MF, Sunyer J, Grimalt J, Rebagliato M, Ballester F, Ibarluzea J, Ribas-Fitó N, Tardon A, Fernandez-Patier R, Torrent M, Olea N. The Spanish Environment and Childhood Research Network (INMA study). *Int J Hyg Environ Health*. 2007; 210:4 91-3

Guxens, M., Ballester, F., Espada, M., Fernández, M.F., Grimalt, J.O., Ibarluzea, J., Olea, N.,

Rebagliato, M., Tardón, A., Torrent, M., Vioque, J., Vrijheid, M., Sunyer, J., Project, on behalf of I. Cohort Profile: The INMA--Infancia y Medio Ambiente--(Environment and Childhood) Project. *Int J Epidemiol.* 2012; 41: 930-40.



ANEXO V

PROYECTO DiSA-UMH

El estudio DiSA nació en el 2006 con el objetivo de desarrollar un cuestionario de frecuencia de alimentos (CFA) para su uso en población joven. Sin embargo, debido el equipo de investigación debido al interés de la información recogida decidió extender el estudio. Recogiéndose entre los años 2006-2012, información de 1204 estudiantes universitarios del campus de ciencias de la salud de San Juan de la Universidad Miguel Hernández de 17-35 años. En el año 2011, se plantea el volver a contactar con los participantes del estudio y hacer un seguimiento cada 3 años. Por ello, El estudio DiSA-UMH, es un estudio de cohorte con seguimiento cada 3 años. Los objetivos de este estudio son:

- a) Examinar la ingesta dietética, estado nutrición, estilos de vida y estado de salud en universitarios de ciencias de las salud.
- b) Evaluar los cambios en los estilos de vida y hábitos dietéticos durante el seguimiento.
- c) Explorar la asociación entre la dieta y los estilos de vida y algunos resultados de salud tales como exceso de peso o tensión arterial elevada.

Equipo de investigación principal: Jesús Vioque; Manoli García de la Hera; Eva M. Navarrete-Muñoz; Daniel Gimenez-Monzo; Sandra González-Palacios; Desirée Valera-Gran; Laura Torres-Collado. Equipo de trabajo de campo y otros colaboradores: José Francisco Checa-Sevilla, Fernando Cano, María Martínez-Moya, Fatoumata Rosita Savane, Ricardo Barrios, Laura Compañ and Amaia Beti.

Web del proyecto: <http://www.bibliodieta.es>

Bibliografía general del proyecto

Eva María Navarrete-Muñoz, Desirée Valera-Gran, Sandra Gonzalez-Palacios, Manoli García de la Hera, Daniel Gimenez-Monzo, Laura Torres-Collado, Jesus Vioque. El Estudio DiSA-UMH: Estudio de cohorte prospectivo en estudiantes de ciencias de la salud de la Universidad Miguel Hernández. Rev Esp Nutr Hum Diet. 2016; 20(1): 69 - 76

ANEXO VI

CFA DE 101 ÍTEMS DE ALIMENTOS

Dpto. Salud Pública, Hª Ciencia y Ginecología-UMH

(Prof. J. Vioque)

CUESTIONARIO DE FRECUENCIA ALIMENTARIA N° 2

IDNUM | | | | | | | |

Estimada Sra., esta parte de la encuesta es para conocer la dieta que ha seguido en los últimos meses de su embarazo. Con ello intentamos averiguar el papel que juega la dieta en relación al desarrollo de su embarazo y su futuro hijo. Sus respuestas serán muy útiles, y por ello, le rogamos preste su máxima atención y colaboración. Cuando un alimento no se adapte plenamente a su consumo habitual, trate de aproximar su respuesta a las cantidades indicadas, con la ayuda de los ejemplos e indicaciones que se le den.

Para cada alimento, señalar cuantas veces como media ha tomado la cantidad que se indica desde la última entrevista. Debe tener en cuenta las veces que toma el alimento solo y cuando lo añade a otro alimento o plato. Por ejemplo, en el caso del huevo, considere cuando lo toma solo (Ej. frito o cocido) y cuando lo toma añadido o mezclado con otros platos. Si en estos tres meses ha venido comiendo una tortilla de 2 huevos cada 2 días, deberá marcar "1 por día". No debe considerar el huevo que va con los productos de bollería o dulces.

	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
I. LACTEOS									
1. Leche entera (1 vaso o taza, 200 cc)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
2. Leche semi-desnatada (1 vaso, 200cc)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
3. Leche desnatada (1 vaso, 200cc)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
4. Leche condensada (1 cucharada)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
5. Nata o crema de leche (1 cucharada)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
6. Yogur entero (uno, 125 gramos)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
7. Yogur desnatado (uno, 125 gramos)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
8. Requesón, queso blanco o fresco (una porción o ración, 100 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
9. Queso curado, semicurado, o cremoso (un trozo, 50 gramos)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10. Natillas, flan, puding (uno)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
11. Helados (1 cucurucho, vasito o bola)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
II. HUEVOS, CARNES, PESCADOS									
12. Huevos de gallina (uno)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
13. Pollo CON piel (1 plato mediano o pieza)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
14. Pollo SIN piel (1 plato mediano o pieza)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
15. Carne de ternera, cerdo, cordero como plato principal (1 plato mediano o pieza)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
16. Carne de caza: conejo, codorniz, pato (1 plato)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
17. Hígado de ternera, cerdo, pollo (1 plato, ración o pieza mediana)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
18. Vísceras: callos, sesos, mollejas (1 ración, 100 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
19. Embutidos: jamón, salchichón, salami, mortadela, (1 ración de unos 50 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
20. Salchichas y similares (una mediana)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
21. Patés, foie-gras (media ración, 50 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
22. Hamburguesa (una mediana, 100 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
23. Tocino, beicon, panceta (2 tiras o lonchas, 50 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
24. Pescado frito variado (1 plato mediano o ración)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
25. Pescado hervido o plancha BLANCO: merluza, lenguado, dorada (1 plato o ración)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
26. Pescado hervido o plancha AZUL: atún, emperador, bonito, (plato o ración)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
27. Otros pescados azules: caballa, sardinas, boquerón/anchos, salmón	1	2	3	4	5	6	7	8	9
28. Una lata pequeña de conserva de atún o bonito en aceite	1	2	3	4	5	6	7	8	9
29. Una lata pequeña de conserva de sardinas o caballa en aceite	1	2	3	4	5	6	7	8	9
30. Pescados en salazón y/o ahumados: anchos, bacalao, salmón (media ración, 50g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
31. Almejas, mejillones, ostras (1 ración, 100 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
32. Calamares, chipirones, sepia, choco, pulpo (1 ración o plato, 100 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
33. Marisco: gambas, cangrejo, langostino, langosta (1 ración 100 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9

	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por dia	2-3 por dia	4-5 por dia	6+ por dia
III. VERDURAS, LEGUMBRES.									
34. Espinacas o acelgas cocinadas (1 plato mediano)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
35. Col, coliflor, brócolis cocinadas (1 plato mediano)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
36. Lechuga, endibias, escarola (1 plato mediano)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
37. Tomate (uno mediano)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
38. Cebolla (una mediana)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
39. Zanahoria, calabaza (una o plato pequeño)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
40. Judías verdes cocinadas (1 plato)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
41. Berenjenas, calabacines, pepinos (uno)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
42. Pimientos (uno)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
43. Alcachofas (una ración o plato mediano, 100 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
44. Espárragos (una ración o plato)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
45. Maíz hervido (plato o lata pequeña, 82 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
46. Legumbres: lentejas, garbanzos, judías pintas o blancas (1 plato mediano)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
IV. FRUTAS									
47. Naranjas, mandarinas (Una)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
48. Zumo de naranja natural (un vaso pequeño, 125 cc)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
49. Plátano (uno)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
50. Manzana, pera (una mediana)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
51. Melocotón, nectarina, albaricoque (uno mediano)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
52. Sandía, melón (1 tajada o cala, mediana)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
53. Uvas (un racimo mediano o plato de postre)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
54. Prunas, ciruelas frescas/secas (una, 37 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
55. Kiwi (una unidad)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
56. Aceitunas (un platillo o tapa de unas 15 unidades pequeñas)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
57. Frutos secos: almendras, cacahuets, piñones, avellanas (1 platillo o bolsita, 30g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
V. PAN, CEREALES Y SIMILARES									
58. Pan blanco (Una pieza pequeña o 3 rodajas de pan de molde, 60 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
59. Pan integral (Pieza pequeña o 3 rodajas de pan de molde)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
60. Cereales desayuno (30 g en seco)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
61. Patatas fritas (1 ración o plato, 100 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
62. Patatas cocidas, asadas (1 patata mediana)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
63. Bolsa de patatas fritas (1 bolsa pequeña, 25-30 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
64. Arroz cocinado (1 plato mediano)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
65. Pastas: espaguetis, fideos, macarrones y similares (1 plato)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
66. Pizza (1 porción o ración, 200 g)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
VI. ACEITES, GRASAS Y DULCES									
67. Aceite de oliva añadido en la mesa a ensalada, pan y a platos (1 cucharada sopera)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
68. Otros aceites vegetales (idem): girasol, maíz, soja (1 cucharada sopera)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
69. Margarina añadida al pan o la comida (1 cucharada o untada)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
70. Mantequilla añadida al pan o la comida (1 cucharada o untada)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
71. Galletas tipo María (1 galleta)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
72. Galletas con chocolate (1 galleta doble)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
73. Bollería: croissant, donut, magdalena, bizcocho, tarta o similar (uno o porción)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
74. Chocolate, bombones y similares (1 barrita o 2 bombones)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
75. Chocolate en polvo, cola-caó y similares (1 cucharada sopera)	1	2	3	4	5	6	7	8	9

VII. BEBIDAS Y MISCELANEAS	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
76. Vino tinto (1 vaso, 125 cc)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
77. Vino blanco o rosado (1 vaso, 125 cc)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
78. Jerez, vinos secos, vermouth (copa, 50 cc)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
79. Cerveza (una caña o botellín 1/5, 200 cc)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
80. Cerveza sin alcohol (una caña o botellín 1/5, 200 cc)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
81. Licores (20-25°): de frutas (manzana), de crema (Catalana, Bayleys) (1 copa, 50 cc)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
82. Brandy, ginebra, ron, whisky, vodka, aguardientes 40° (1 copa, 50 cc)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
83. Refrescos normales de cola, naranja, limón (ej. coca-cola, fanta) (Uno, 250 cc)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
84. Refrescos sin azúcar cola, naranja, limón (ej. coca-cola o pepsi light) (Uno, 250 cc)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
85. Agua del grifo (1 vaso, 250 cc)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
86. Agua embotellada sin gas (1 vaso, 250 cc)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
87. Agua embotellada con gas (1 vaso, 250 cc)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
88. Zumo de frutas envasado (1 vaso o envase de 200cc)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
89. Café (1 taza)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
90. Café descafeinado (1 taza)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
91. Té o infusiones (1 taza)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
92. Sopa o puré de verduras (un plato)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
93. Croquetas de pollo, jamón (una)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
94. Croquetas, palitos o delicias de pescado fritos (una)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
95. Mayonesa (1 cucharada)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
96. Salsa de tomate (media taza)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
97. Ketchup ó catchup (1 cucharada sopera)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
98. Sal añadida a los platos en la mesa (1 pizca del salero o pellizco con dos dedos)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
99. Ajo (1 diente)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
100. Mermeladas, miel (1 cucharada)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
101. Azúcar (ej. en el café, postres, etc.) (1 cucharadita)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
¿Consumo algún otro alimento regularmente al menos una vez a la semana?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
_____	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
_____	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Consumo de suplementos vitamínicos o minerales. Referido a los meses previos, desde la última entrevista hasta ahora. ¿Ha tomado suplementos de vitaminas o minerales?...

	Marca y presentación	Dosis semanal (comp/sem)	Fecha inicio (mes/año)	¿Sigue tomándolo?	Si no, fecha de finalización
a. Sal yodada	_____	_____	___/___/___	<input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	___/___/___
b. Leche con vit A+D	_____	_____	___/___/___	<input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	___/___/___
c. Leche rica en Calcio	_____	_____	___/___/___	<input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	___/___/___
d. Fibra/sup ricos en fibra	_____	_____	___/___/___	<input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	___/___/___
e. Multivitaminas	_____	_____	___/___/___	<input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	___/___/___
f. Ácido fólico	_____	_____	___/___/___	<input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	___/___/___
g. Complejo A + E	_____	_____	___/___/___	<input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	___/___/___
h. Vitamina A	_____	_____	___/___/___	<input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	___/___/___
i. Vitamina E	_____	_____	___/___/___	<input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	___/___/___
j. Vitamina C	_____	_____	___/___/___	<input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	___/___/___
i. Hierro	_____	_____	___/___/___	<input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	___/___/___
j. Calcio	_____	_____	___/___/___	<input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	___/___/___
l. Complejo B	_____	_____	___/___/___	<input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	___/___/___
m. Zinc	_____	_____	___/___/___	<input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	___/___/___
n. Otros Suplementos	_____	_____	___/___/___	<input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	___/___/___

ANEXO VII

CFA DE 105 ÍTEMS DE ALIMENTOS



Cuestionario de Frecuencia Alimentaria y Actividad Física (NIÑOS 4 años)

CUESTIONARIO DE FRECUENCIA ALIMENTARIA

IDNUM | | | | |

Entrevistador/a: "Esta parte de la encuesta es para conocer la dieta que ha seguido su hijo/a en el último año y averiguar si guarda relación con su crecimiento y desarrollo. Por ello, le agradecemos sinceramente que preste la máxima atención y colaboración informando en la medida de lo posible sobre la dieta que hace en casa y fuera (colegio, restaurantes, etc). Cuando la cantidad especificada para un alimento no se adapte plenamente a la ración habitual que consume su hijo/a, trate de aproximar su respuesta subiendo o bajando la frecuencia de consumo, como se indica en algunos ejemplos que damos".

Para cada alimento señalar **cuantas veces como media** ha tomado la cantidad que se indica durante el último año. Debe tener en cuenta las veces que toma el alimento solo y cuando lo añade a otro alimento o plato. Por ejemplo, el huevo, considere cuando lo toma solo (frito, cocido o tortilla) y cuando lo toma añadido o mezclado con otros platos (ej. revueltos, rellenos, etc). Si suele comer una tortilla de 2 huevos cada 2 días, deberá marcar para un huevo, 1 por día.

I. LACTEOS		Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
LECHE (1-6) (1 vaso o taza pequeña, <u>sola con colacao o añadida a cereales</u>)	1. Entera	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	2. Semi-desnatada	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	3. Leche enriquecida: Energía y crecimiento	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	4. Otras leches enriquecidas: Calcio, Omega-3, Fólico, Soja	1	2	3	4	5	6	7	8	9
YOGUR (7-9) Uno o un vaso pequeño	5. Yogur entero natural sin azúcar (uno)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	6. Yogur entero natural azucarado, con frutas, sabores o líquidos tipo Dan-up (unidad o vasito pequeño)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	7. Yogur pre- o probiótico sólido o líquido tipo Actimel, Bios (uno)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
8. Batidos de leche tipo Cacaolat, ColacaoEnergy o sabores (un vaso/botella pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
9. Petit suisse, Danonino , o similar (unidad pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
10. Requesón, queso blanco o fresco (una porción o ración pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
11. Queso tierno: cremosos (babybel), en porciones (El Caserío), en lonchas, taquitos o rallado de paquetes (unidad, loncha, porción, o puñado añadido a ensaladas o platos)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
12. Queso semi-curado o curado (una loncha o trozo)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
13. Natillas, flan, pudding (uno)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
14. Helados de leche (1 cucurucho, bola o tarrina pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	

Si no se indica de otra forma, los platos y porciones que se preguntan son de tamaño pequeño, el habitual para edad infantil. Si su hijo toma una porción o plato mayor, deberá aumentar la frecuencia convenientemente. Por ejemplo, si su hijo/a toma hamburguesa 2-4 veces/semana, pero en vez de tomar 1 unidad, toma 2 cada vez o de 1 tamaño grande, entonces deberá aumentar la frecuencia a 5-6/sem ó incluso 1/día. Lo mismo para otros platos (carne, embutidos, etc.)

II. HUEVOS, CARNES, PESCADOS		Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
15. Huevo de gallina frito, revuelto, cocido, en tortillas o en otros platos o recetas (uno)		1	2	3	4	5	6	7	8	9
16. Pollo o pavo <u>con piel</u> (pieza pequeña, incluida hamburguesa o nuggets de pollo)		1	2	3	4	5	6	7	8	9
17. Pollo o pavo <u>sin piel</u> (pieza o ración pequeña)		1	2	3	4	5	6	7	8	9
18-20. Carne en filetes, chuletas, etc.; acompañando a guisos, arroz, legumbres, pastas, canelones; o en albóndigas. (pieza o plato pequeño)	18. Ternera 19. Cerdo 20. Cordero	1	2	3	4	5	6	7	8	9
21. Hígado de ternera, cerdo, cordero, pollo (1 ración o pieza pequeña)		1	2	3	4	5	6	7	8	9
22. Jamón York o serrano (loncha o ración de bocadillo)		1	2	3	4	5	6	7	8	9
23. Embutidos -salchichón, fuet , salami, chorizo, mortadela: 3-4 lonchas, ración bocadillo.		1	2	3	4	5	6	7	8	9
24. Salchichas, Frankfurts y similares (1 pequeña)		1	2	3	4	5	6	7	8	9
25. Longanizas, butifarras y similares (una mediana)		1	2	3	4	5	6	7	8	9
26. Patés, foie-gras (una cucharada o untada de bocadillo)		1	2	3	4	5	6	7	8	9
27. Hamburguesa (unidad pequeña)		1	2	3	4	5	6	7	8	9
28. Croquetas de pollo o jamón (2 unidades medianas o 3-4 pequeñas)		1	2	3	4	5	6	7	8	9
29. Empanadillas/empanadas, todos los tipos (1 pequeña)		1	2	3	4	5	6	7	8	9

Si no se especifica de otra manera, los platos para carne, pescado, verduras, legumbres o frutas son de tamaño pequeño-mediano. Si el tamaño o porción que se consume habitualmente es diferente, se deberá ajustar aumentando o disminuyendo la frecuencia de consumo de lo especificado convenientemente

30. Derivados de pescado fritos: delicias, barritas, muslitos de mar (<i>surimi</i>) (dos unidades)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
31. Pescado BLANCO frito o rebozado (1 plato mediano o ración)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
32. Pescado BLANCO plancha o hervido: merluza, lenguado, dorada (ración pequeña,)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
33. Emperador o pez de espada (filete o ración pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
34. Pescado AZUL grande (otros): atún, bonito, salmón (ración pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
35. Pescado AZUL pequeño: boquerón o anchoa, sardinas, caballa (ración pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
36. Conservas en aceite de atún, bonito, sardina o caballa (media lata pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
37. Almejas, mejillones, berberechos y similares (1/2 lata pequeña o 1/2 ración pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
38. Calamares, chipirones, sepia, choco, pulpo (1/2 ración pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
39. Marisco: gambas, cangrejo, langostino, langosta (1/2 ración pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9

III. VERDURAS, LEGUMBRES (considere el consumo directo o en purés, papillas u otras preparaciones cocinadas)	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
40. Lechuga, endibias, escarola, berros (ración pequeña o guarnición)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
41. Tomate crudo en ensalada o triturado acompañando a platos, tostadas (1 pequeño)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
42. Salsa de tomate frito añadida a platos: huevo, pastas, (2-3 cucharadas soperas)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
43. Cebolla, puerros en purés, cremas u otros platos (media unidad pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
44. Pimiento rojo o verde crudo o cocinado en purés, ensaladas... (1/2 verde o 1/4 rojo)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
45. Zanahoria cruda o cocinada (media unidad pequeña o 2 cucharadas soperas)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
46. Maíz hervido (1 cucharada sopera colmada)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
47. Espinacas o acelgas cocinadas (ración o guarnición pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
48. Col, coliflor, brócolis cocinadas (ración pequeña o 3 ramilletes)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
49. Calabaza cocinada (ej ración de puré pequeña o 3 cucharadas soperas)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
50. Judías verdes cocinadas (ración pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
51. Berenjenas, calabacín cocinados (medio pequeño o media ración pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
52. Legumbres: lentejas, garbanzos, judías pinta o blanca (ración pequeña o 4 cuch.sop)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
53. Otras legumbres cocinadas en cremas o purés: guisantes, habitas (ración pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9

Para alimentos de temporadas (ej. frutas, helados), calcular el consumo medio para todo el año. Por ejemplo, si se consume 1 tajada de sandía o melón diaria durante 3-4 meses de verano, entonces el consumo medio resultante al año sería de "2-4 veces/sem" ④, o si consume 1 naranja al día durante 8-9 meses, entonces sería "5-6 por semana".

IV. FRUTAS (considere el consumo directo y el que se hace en zumos, papillas u otras preparaciones como macedonias)	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
54. Una naranja pequeña o mandarina mediana (Unidad)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
55. Zumo de naranja natural (un vaso pequeño)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
56. Plátano (uno pequeño)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
57. Manzana, pera (media manzana mediana o una pera pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
58. Melocotón, nectarina, albaricoque (uno pequeño o dos albaricoques)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
59. Sandía, melón (1 tajada pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
60. Uvas (un racimo pequeño o plato de postre)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
61. Fresas (6-8 fresas pequeñas o plato de postre)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
62. Cerezas, ciruelas, higos-brevas frescos (plato postre o 6-7 cerezas o 1 higo mediano)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
63. Kiwi (una unidad)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
64. Piña natural, mango, papaya (una rodaja de piña o 1/3 de mango/papaya)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
65. Fruta en almíbar: melocotón, piña, pera, macedonia (1 mitad o rodaja, 4-5 cuch.sopera)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
66. Aceitunas (un platito o tapa de 8-10 unidades pequeñas)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
67. Frutos secos: almendras, cacahuets, piñones, avellanas, nueces (1 puñado)	1	2	3	4	5	6	7	8	9

	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
V. PAN, CEREALES Y SIMILARES									
68. Pan blanco (pieza pequeña para bocadillo, ¼ baguette o 2 rodajas de molde)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
69. Pan integral (pieza pequeña de bocadillo o 2 rodajas de molde)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
70. Palitos de pan, roscos, rosquilletas y similares (3-4 unidades o 1 rosquilla)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
71. Cereales desayuno normales o mezclas azucarados (3 cuch sopera o ración pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
72. Cereales desayuno con denominación ricos en fibra, menos azúcar (ración)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
73. Patatas fritas congeladas o tipo <i>McDonals, Burger King</i> (1 ración pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
74. Patatas fritas caseras (1 ración o guarnición pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
75. Patatas cocidas, asadas en guisos, ensaladillas u otros platos (1/2 patata pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
76. Bolsa de patatas fritas (1 bolsa pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
77. Bolsa palomitas, cortezas maíz, conos, similares – <i>doritos, bocabits-</i> (bolsa pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
78. Arroz cocinado ya sea en paella o en hervidos (1 plato pequeño o 4-5 cuch sopera)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
79. Pastas: espaguetis, macarrones, fideos (caldo), lasaña, canelones (plato pequeño)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
80. Piza (1 porción o ración pequeña)	1	2	3	4	5	6	7	8	9

Los alimentos que suelen acompañar a platos como arroz, pastas, ensaladas y otros platos como por ejemplo la carne en lasañas o canelones, queso rallado añadido a pastas o ensaladas, etc. deberán contemplarse en su sección respectiva. Los platos de sopas o caldos en los que se usa arroz o fideos deberán considerarse como arroz o pasta.

	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
VI. BOLLERÍA Y DULCES									
81. Galletas tipo María (1 galleta)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
82. Galletas con chocolate (1 galleta doble rellena tipo <i>Oreo</i> o 1 envuelta)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
83. Galletas o <i>cookies</i> integrales (1 galleta)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
84. Magdalenas o bizcochos <u>comerciales</u> (una mediana o ¼ bizcocho)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
85. Croissant, ensaimada, <i>donuts</i> u otra bollería <u>comercial</u> sin relleno (uno mediano)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
86. <i>Bollicao</i> u otra bollería <u>comercial</u> con relleno crema o chocolate (uno)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
87. Otro tipos de repostería <u>casera</u> : pasteles, tartas, (una unidad o porción mediana)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
88. Chocolate, bombones y similares (2 bombones, barritas o pastillas)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
89. Chocolate en polvo, <i>Cola-caó</i> y similares (1 cucharada postre colmada)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
90. <i>Nocilla</i> o cremas de cacao similares (cucharada sopera o untada bocadillo)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
91. Caramelos y otras chucherías (2-3 unidades, 1 <i>chupa-chup</i> o 1 <i>fig-flag</i>)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
92. Mermeladas, miel (1 cucharada postre)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
93. Azúcar (ej. añadida en leche, yogur, postres, cola-caó, etc.) (1 cucharada postre)	1	2	3	4	5	6	7	8	9

	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
VII. ACEITES, GRASAS, SALSAS, CONDIMENTOS									
94. Aceite de oliva añadido en la mesa a ensalada, pan y a platos (1 cucharada sopera)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
95. Otros aceites vegetales (añadido en mesa): girasol, maíz, soja (1 cucharada sopera)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
96. Mantequilla añadida al pan o a la comida (1 cuch. postre, <i>minibrick</i> o 2 untadas)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
97. Margarina añadida a pan/comida (1 cuch-postre) <i>marca</i> _____	1	2	3	4	5	6	7	8	9
98. Mayonesa (o <i>alioli</i>) en ensalada, ensaladilla, carnes y otros platos (1 cuch. sopera)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
99. Ketchup ó <i>catchup</i> (1 cucharada sopera)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
100. Sal añadida a los platos en la mesa (1 pizca del salero o pellizco con dos dedos)	1	2	3	4	5	6	7	8	9

	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ por día
VIII. BEBIDAS Y MISCELANEAS									
101. Refrescos normales de cola, naranja, limón (ej. <i>coca-cola, fanta</i>) (Uno pequeño)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
102. Refrescos sin azúcar cola, naranja, limón (ej. <i>coca-cola o pepsi light</i>) (Uno pequeño)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
103. Zumos de frutas envasado (1 vaso o envase tipo <i>brick</i> pequeño)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
104. Agua del grifo (1 vaso)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
105. Agua embotellada sin gas (1 vaso)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
¿Consume algún otro alimento al menos una vez a la semana?	1	2	3	4	5	6	7	8	9
-----	1	2	3	4	5	6	7	8	9
-----	1	2	3	4	5	6	7	8	9

ANEXO VIII

CFA DE 84 ÍTEMS DE ALIMENTOS



DEPARTAMENTO DE SALUD PUBLICA
 UNIVERSIDAD MIGUEL HERNANDEZ
 Campus de San Juan. Ctra. Valencia s/n.03550-San Juan Alicante.
 Teléfono 96 591 9490 ó 96 591 9506
 INVESTIGADOR PRINCIPAL: Profesor Jesús Vioque

Código: | | | | |

Versión Febrero 2012

Dieta, salud y antropometría en población universitaria

La información contenida en esta encuesta está sujeta a las leyes de protección de datos y del secreto estadístico. **NO será publicada ni cedida a NADIE de manera que se pueda saber a quién corresponde, ni siquiera indirectamente.** Será utilizada sólo para los propósitos establecidos en este estudio y no será divulgada o entregada a otros a no ser que así sea expresamente solicitado por el entrevistado.

Edad: años Sexo: 1. Hombre 2. Mujer

Titulación:

Fecha de realización: (Día/mes/año)

Nombre y apellidos:

Dirección completa (donde podamos localizarle en los próximos años por ejemplo el domicilio familiar)

Calle: Nº: Esc: Puerta:

Código Postal: Población: Provincia:

Teléfono de contacto: Fijo: Móvil:

e-mail

A PARTIR DE AHORA COMIENZA EL CUESTIONARIO SEGUIR LAS INSTRUCCIONES Y LEER LOS EJEMPLOS DEL CUESTIONARIO

Para cada alimento, señalar cuantas veces como media se ha tomado la cantidad indicada durante el año pasado. Tener en cuenta las veces que se toma el alimento solo y cuando se añade a otro plato. Por ejemplo, en el caso del huevo, considerar cuando se toma solo (ej. frito o cocido) y cuando se come en otros platos (ej. tortilla). Por ejemplo, si se come una tortilla de 2 huevos cada 2 días, se marcaría "1 por día"

I. LACTEOS	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por dia	2-3 por dia	4-5 por dia	6+ por dia
1. Leche entera (1 vaso, 200 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
2. Leche semi-desnatada (1 vaso, 200cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
3. Leche descremada o desnatada (1 vaso, 200cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
4. Yogur (uno, 125 gramos)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
5. Yogur desnatado (uno, 125 gramos)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
6. Requesón, queso blanco o fresco (una porción o ración, 100 g)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
7. Queso curado, semicurado, o cremoso (un trozo, 50 gramos)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
8. Natillas, flan, puding (uno)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
9. Helados (1 cucurucho, vasito o bola)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

Para alimentos que se consumen por temporadas, calcular el consumo medio para todo el año. Por ejemplo, si un alimento como la sandía se come 4 veces por semana en el verano (unos 3 meses), entonces el consumo medio para todo el año se marcaría como ③, "1 vez por semana"

II. HUEVOS, CARNES, PESCADOS	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por dia	2-3 por dia	4-5 por dia	6+ por dia
10. Huevos de gallina (uno)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
11. Pollo con piel (1 plato o pieza mediana)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
12. Pollo sin piel (1 plato o pieza mediana)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
13. Carne de ternera, cerdo, cordero como plato principal (1 plato o pieza mediana)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
14. Hígado de ternera, cerdo, pollo (1 plato, ración o pieza pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
15. Embutidos: jamón, salchichón, salami, mortadela, (1/2 ración o plato, unos 50 g)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
16. Salchichas y similares (una mediana)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
17. Patés, foie-gras (1/2 ración)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
18. Hamburguesa (una mediana)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
19. Pescado frito variado (1 plato mediano o ración)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
20. Pescado hervido o plancha blanco: merluza, lenguado (1 plato o ración mediana)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
21. Pescado hervido o plancha azul: sardinas, atún (1 plato o ración mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
22. Pescado en conservas: atún, sardinas, arenques (1 lata pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
23. Almejas, mejillones, ostras (1/2 lata o ración)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
24. Calamares, chipirones, sepia, choco, pulpo (1/2 ración o plato)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
25. Marisco: gambas, cangrejo, langostino, langosta (1/2 ración)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

III. VERDURAS, LEGUMBRES, FRUTAS	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por dia	2-3 por dia	4-5 por dia	6+ por dia
26. Espinacas o acelgas cocinadas (1 plato mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
27. Col, coliflor, broccolis cocinadas (1 plato mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
28. Lechuga, endibias, escarola (1 plato mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
29. Tomate (uno mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
30. Cebolla (una mediana)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
31. Zanahoria, calabaza (una o plato pequeño)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
32. Judías verdes cocinadas (1 plato)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
33. Berenjenas, calabacines, pepinos (uno)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
34. Pimientos (uno)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
35. Alcachofas (una ración o plato mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
36. Espárragos (una ración o plato)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
37. Maíz hervido (plato o lata pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
38. Legumbres: lentejas, garbanzos, judías pintas o blancas (1 plato mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
39. Naranjas, mandarinas (Una)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
40. Zumo de naranja natural (un vaso pequeño, 125 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
41. Plátano (uno)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
42. Manzana, pera (una pequeña-mediana)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
43. Melocotón, nectarina, albaricoque (uno pequeño-mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
44. Sandía, melón (1 tajada o cala pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
45. Uvas (un racimo mediano o plato de postre)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
46. Prunas, ciruelas frescas/secas (una)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
47. Kiwi (una unidad)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
48. Aceitunas (un platito o tapa pequeña de unas 10 unidades)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
49. Frutos secos: almendras cacahuetes piñones, avellanas (platito o bolsita pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

IV. PAN, CEREALES Y SIMILARES	Consumo medio anual								
	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por dia	2-3 por dia	4-5 por dia	6+ por dia
50. Pan blanco (Una pieza pequeña o 2 rodajas de pan de molde)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
51. Pan integral (Pieza pequeña o 2 rodajas de pan de molde)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
52. Patatas fritas (1 ración o plato pequeño)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
53. Patatas cocidas, asadas (1 patata mediana)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
54. Bolsa de patatas fritas (1 bolsa pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
55. Arroz cocinado (1 plato mediano)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
56. Pastas: espaguetis, fideos, macarrones y similares (1 plato)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
57. Pizza (1 porción o ración pequeña)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

V. ACEITES, GRASAS Y DULCES	Consumo medio anual								
	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por dia	2-3 por dia	4-5 por dia	6+ por dia
58. Aceite de oliva (1 cucharada sopera)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
59. Otros aceites vegetales: girasol, maíz, soja (1 cucharada sopera)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
60. Margarina añadida al pan o la comida (1 cucharada o untada)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
61. Mantequilla añadida al pan o la comida (1 cucharada o untada)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
62. Galletas tipo María (1 galleta)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
63. Galletas integrales (1 galleta)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
64. Bollería: croissant, donut, magdalena, bizcocho, tarta o similar (uno o porción)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
65. Chocolate, bombones y similares (1 barrita o 2 bombones)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
66. Chocolate en polvo, cola-caó y similares (1 cucharada sopera)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

VI. BEBIDAS, PRECOCINADOS Y MISCELANEAS	Consumo medio anual								
	Nunca ó <1 mes	1-3 por mes	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por dia	2-3 por dia	4-5 por dia	6+ por dia
67. Vino tinto (1 vaso, 125 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
68. Vino blanco o rosado (1 vaso, 125 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
69. Jerez, vinos secos, vermut (copa, 50 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
70. Cerveza (una caña o botellín 1/5, 200 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
71. Brandy, ginebra, ron, whisky, vodka, aguardientes 40° (1 copa, 50 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
72. Refrescos normales de cola, naranja, limón (ej. coca-cola, fanta) (Uno, 250 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
73. Refrescos "light" sin azúcar cola, naranja, limón (ej. coca-cola) (Uno, 250 cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
74. Zumos de frutas envasado (1 vaso o envase de 200cc)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
75. Café (1 taza)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
76. Croquetas (una)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
77. Palitos, delicias de pescado fritos y similares (una)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
78. Mayonesa (1 cucharada)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
79. Salsa de tomate (media taza)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
80. Ketchup (1 cucharada sopera o sobrecito pequeño)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
81. Sal (1 pizca o pellizco con dos dedos)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
82. Ajo (1 diente)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
83. Mermeladas, miel (1 cucharada)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
84. Azúcar (ej. en el café, postres, etc.) (1 cucharadita)	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨

No olvidar rellenar todas las casillas. Normalmente las porciones o platos son de tamaño pequeño o mediano, pero si el tipo, cantidad o tamaño indicado para un alimento no coincide con el que toma habitualmente, tratar de adaptar la respuesta al máximo subiendo o bajando la frecuencia de consumo. Para cada alimento, marcar la casilla apropiada para su consumo medio durante el año pasado. Por ejemplo si toma una cucharada de mermelada cada dos días, entonces debe marcar la casilla ④, "2-4 veces por semana". La paella se considera dentro del consumo de arroz cocinado.

ANEXO IX

MACRODIETA

El grupo EPINUT, en los últimos años, ha realizado un esfuerzo añadido para elaborar un programa que permita estimar fácil y rápidamente los datos que se recogen en los cuestionarios de frecuencia de alimentos. la ingesta de nutrientes, alimentos, ... ha desarrollado un software específico llamado MACRODIETA que permite realizar múltiples estimaciones nutricionales

- Ingesta de alimentos (porciones o en gramos/día).
- Ingesta de nutrientes cruda y ajustada por ingesta energética (método residuos o de Willett).
- Ingesta de grupos de alimentos predeterminados ad hoc.
- Índices de calidad alimentaria: Dieta saludable (aHEI), dieta Mediterránea (AMED).
- Informes individuales de ingestas de acuerdo a recomendaciones.
- Agrupaciones alimentarias y de grupos de individuos.
- Alimentos principales contribuyentes a la ingesta de nutrientes específicos.

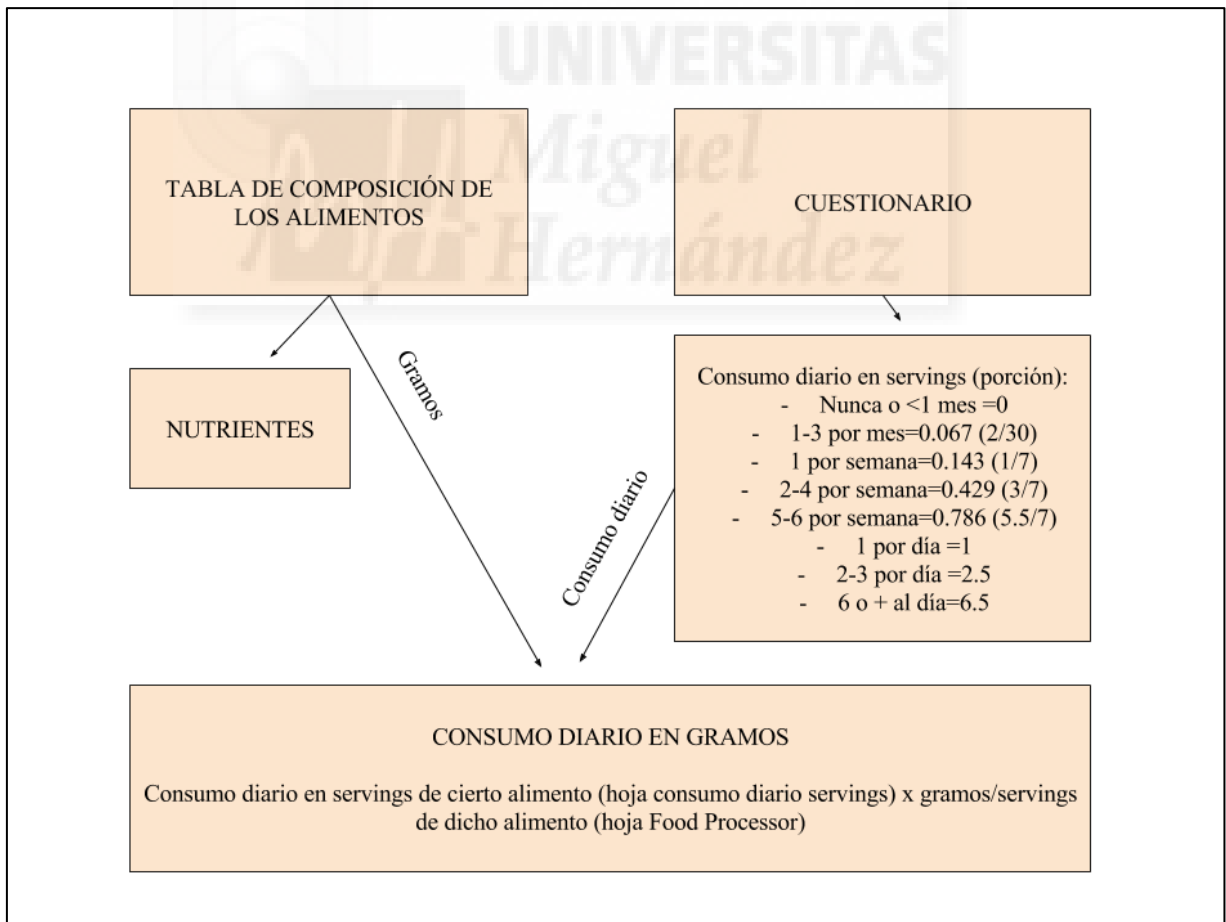


Imagen de la pestaña insertada en Excel y que permite realizar todos los cálculos nutricionales.

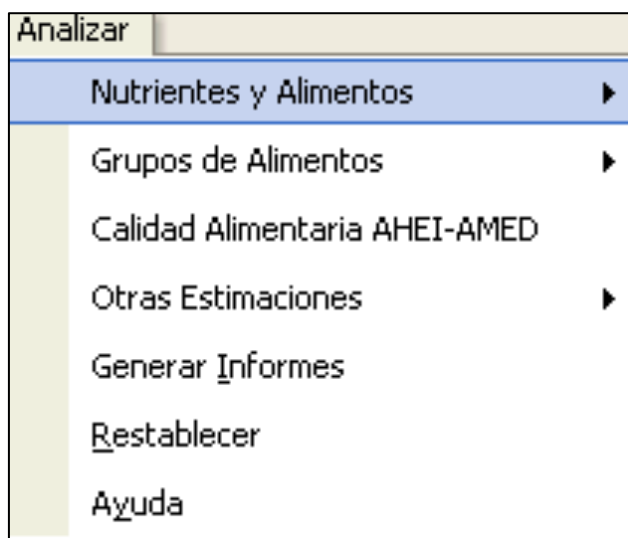


Imagen de la hoja para introducir los cuestionarios en MACRODIETA.

