Colonización bacteriana anormal del intestino delgado alto en escolares de nivel socioeconómico alto y bajo

Julio Espinoza M.¹; Oscar Brunser T.¹; Magdalena Araya Q.¹

Abnormal microbiological contamination of the small intestine among school-age children of the high and low socioeconomic strata

Microbiological contamination of the environment induces chronic environmental enteropathy, characterized by mild to moderate morphological and functional changes of the small intestinal mucosa. Bacterial colonization was evaluated in 311 school aged children (155 of the high (H-SES) and 156 of the low (L-SES) socioeconomic strata) by means of the breath H₂ test. Samples were obtained after overnight fast and every 15 minutes for 240 minutes following the ingestion of 150 mg • kg lactulose. A health questionnaire that included information about food and medicines ingestion, alcohol consumption, smoking and intolerance to foodstuffs was also applied. In 30% of the children basal H₂ excretion was above 10 ppm. In 18,1% of the H-SES and 4,5% of the L-SES ($p < 0,0001$) H₂ excretion was higher than 20 ppm in the first 90 minutes. Colonic peaks (> 20 ppm between 90 and 240 minutes) were detected in 78,7% of the H-SES and 40,4% of the L-SES ($p < 0,0001$). In 18,7% and 48,7% of the H-SES and L-SES, respectively, curves were flat (basal excretion < 10 ppm and increments < 20 ppm). Chronic environmental enteropathy is already present in school age children. The lower breath H₂ excretion observed in low socioeconomic individuals may be due to differences in quality and quantity of the diet.

[Key words: enteropathy, microbiological contamination, breath H₂ excretion, lactulose, school-age children.]

Una de las características de los países subdesarrollados es el deficiente saneamiento microbiológico del ambiente, que se traduce en altas incidencias de diarrea y de otras infecciones¹. En el tubo digestivo la contaminación microbiológica produce alteraciones morfológicas y funcionales que fueron descritas en habitantes de áreas tropicales, por lo que se denominaron enteropatía tropical^{2, 3}. Estas alteraciones también ocurren en zonas templadas y el grado de contaminación modifica su intensidad. Así, estas lesiones eran máximas en países como India o Haití y eran mucho menores en Rhodesia (actualmente Zimbabwe) y en Chile⁴⁻⁷. Debido a que la relación con la contaminación del ambiente es el factor más importante se la denomina actual-

mente enteropatía ambiental crónica⁸. Estudios realizados en Santiago en adultos jóvenes de nivel socioeconómico bajo (NSE-B) demostraron alteraciones histológicas y de la absorción de nutrientes de intensidad leve a moderada. El cultivo del jugo intestinal reveló contaminación del lumen yeyunal alto por anaerobios y microaerófilos⁹. La ingesta de cantidades habituales de fibra dietaria se asoció a pérdidas desproporcionadas de nutrientes por las deposiciones. La demostración de estos hallazgos requirió de métodos invasores (estudios de balance, de perfusión con sonda de triple lumen y biopsias de la mucosa yeyunal). La enteropatía ambiental crónica puede repercutir negativamente sobre el estado nutricional¹⁰.

Otros estudios demostraron que preescolares de nivel socioeconómico alto (NSE-A) sufrían menos episodios de diarrea que los de NSE-B, pero tenían mayores niveles de portación de algunos enteropatógenos bacterianos¹¹. También se demostró que la piel de las manos de las personas

1. Unidad de Gastroenterología, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile.

Financiado por el Proyecto Fondecyt 91-1043.

que manipulaban alimentos en el hogar y algunos alimentos de consumo habitual estaban altamente contaminados con bacterias fecales, independientemente del nivel socioeconómico¹². El tránsito de enteropatógenos por el tracto digestivo se pesquisó desde los primeros días de vida y no se correlacionó con el nivel socioeconómico, lo que sugiere que depende principalmente del medio ambiente que rodea al sujeto al nacer¹³.

En la infancia no es posible usar métodos invasores, razón por la que la enteropatía ambiental crónica no ha sido estudiada en esta edad. La medición de la excreción de H₂ en el aire espirado permite explorar algunos de estos aspectos, ya que las variaciones de su concentración después de ingerir una sustancia no absorbible (como la lactulosa) reflejan la metabolización del sustrato por la flora intestinal residente o por cualquier colonización anormal¹⁴⁻¹⁷. El objetivo de este estudio fue evaluar la presencia de contaminación microbiológica del intestino alto en preescolares y escolares.

Sujetos y procedimientos

Se seleccionaron escuelas de los niveles socioeconómicos alto y bajo. Después de recibir la autorización de los establecimientos educacionales, se obtuvo el consentimiento escrito de los padres y la aceptación de participar de los alumnos. El nivel socioeconómico se determinó mediante la escala de Graffar adaptada para población urbana de Chile^{18, 19}.

Se formaron dos grupos de ambos sexos distribuidos entre los 4 y los 14 años de edad: 155 de NSE-A y 156 del NSE-B (tabla 1). Las madres fueron instruidas para dar al niño alimentación liviana el día antes del examen, incluyendo una comida pobre en fibra la noche anterior. Los escolares debían concurrir en ayunas y los de menor edad fueron acompañados por su madre.

Se completó un cuestionario precodificado acerca de la salud del niño, intolerancia a alimentos, y consumo de alcohol, tabaco o medicamentos. No ingresaron al estudio sujetos que hubieran recibido antibióticos en los 15 días previos. La ingestión de alimentos se evaluó mediante un recordatorio de 24 horas. El examen físico incluía mediciones de peso y talla; los resultados fueron comparados con el estándar OMS/NCHS²⁰ y expresados como puntuación Z²¹.

Para la prueba de excreción de H₂ se obtuvo una muestra basal, previa a la administración de 150 mg · kg de peso de lactulosa anafítica (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo, USA.). A continuación se obtuvieron muestras cada 15 minutos por 6 horas, empleando bolsas de Mylar con válvula de entrada y salida^{16, 17}. El H₂ se midió el mismo día en un cromatógrafo Quintron Micro Lyzer Modelo 12.

Los resultados se analizaron con el paquete estadístico SAS (SAS Institute, Cary, NC, USA), usando promedios, desviaciones estándar, chi cuadrado y prueba t de Student²¹.

Resultados

Todos los sujetos estaban dentro de los márgenes normales o mostraban desviaciones moderadas en su peso corporal. En el NSE-B algunos niños tenían bajo peso para la edad; el examen físico demostró alta prevalencia de piezas dentales con caries o faltantes y mayor número de infecciones cutáneas, en tanto que los de NSE-A tendían ser más corpulentos y, algunos, obesos.

La encuesta de ingestión de 24 h reveló que para los alumnos de NSE-B el desayuno y el almuerzo que entrega la escuela representaron una proporción importante de la alimentación diaria; 47,4% no ingería otros alimentos (particularmente en la noche). Esta cifra era mucho menor (6,5%) en el NSE-A. Las cantidades de fibra dietaria eran semejantes en ambos niveles socioeconómicos; los niños de NSE-A alto ingerían más proteínas y energía.

En las mediciones basales, la excreción de más de 10 ppm de H₂ en el aire espirado fueron significativamente más frecuentes en el NSE-A ($p < 0,01$) (tabla 2). Si se usa como índice de fermentación yeyunal el aumento de más de 20 ppm de H₂ por sobre el valor basal en los primeros 90 minutos después de ingerir la lactulosa, éste también fue más frecuente en los escolares de NSE-A (28/155 = 18,1% vs 7/156 = 4,5%; $p < 0,0001$).

Para definir la cúspide o máximo colónico se considera la excreción de más de 10 ppm de H₂ sobre el nivel basal a los 90 a 240 minutos después de ingerir la lactulosa. En el NSE-A y en el NSE-B hubo cúspide colónica en 124/155 (81,0%) y 76/156 (49,3%), respectivamente

Tabla 1

Distribución de la edad de los escolares de nivel socioeconómico alto (NSE-A) y bajo (NSE-B) a los que se midió el hidrógeno espirado

Edad (años)	NSE-A	NSE-B
4 - 6	9	14
6 - 8	32	34
8 - 10	30	32
10 - 12	36	32
12 - 14	37	32
> 14	11	12
Total	155	156

Tabla 2

Excreción basal > 10 ppm de hidrógeno espirado antes de ingerir lactulosa en escolares de niveles socioeconómicos alto y bajo

	NSE alto (n : 155)	NSE bajo (n : 156)
Hombres	44*	21
Mujeres	18*	21
Total	62 (40,0%)**	42 (26,9%)**

* $\chi^2 = 20,97$; $p < 0,00000$
 ** $\chi^2 = 5,97$; $p < 0,01452$

NSE: nivel socioeconómico

($p < 0,00000$). Esta cúspide también se puede expresar como la elevación del H_2 sobre 20 ppm entre los 90 y los 240 minutos de observación. En este caso también había diferencias significativas entre ambos NSE (tabla 3). En una proporción de los sujetos no se observó cúspide colónica (tabla 3). Esto no presupone necesariamente ausencia de cúspide yeyunal, ya que 6 (10,2%) escolares de NSE-B que no la presentaban tuvieron excreciones de H_2 superiores a 20 ppm durante los primeros 90 minutos (tabla 3).

Algunas curvas de excreción de H_2 en el aire espirado fueron planas, con niveles basales inferiores a 10 ppm y sin elevaciones superiores a 20 ppm durante todo el período de observación (tabla 4). En esta tabla aparece también la proporción de curvas con cúspide colónica superior a 20 ppm entre los 90 y los 240 minutos, así como aquellas que tenían niveles iniciales de excreción de H_2 superiores o inferiores a 10 ppm.

En la tabla 5 se analiza la relación entre la ingesta de alimentos, incluyendo fibra, y los valores de excreción de H_2 ; se observaron diferencias entre los grupos para las diferentes formas de expresión de resultados. Las cúspides yeyunal y colónica se correlacionaron con los niveles de ingestión de alimentos. No se pudo establecer correlaciones entre la ingestión de medicamentos y excreción de H_2 .

En lo referente a la relación talla/edad (T/E), los niños de NSE-A tienen distribución percentil ($65,6 \pm 26,3$ ante $28,4 \pm 25,1$), puntuación Z ($0,58 \pm 0,75$ ante $0,99 \pm 0,92$) y adecuación al percentil 50 del estándar NCHS ($102,6 \pm 4,5$ ante $96,5 \pm 4,2$) significativamente más altos

Tabla 3

Excreción > 20 ppm de hidrógeno espirado entre los 90 y 240 min (cúspide) en escolares de nivel socioeconómico alto y bajo

	NSE alto (n : 155)	NSE bajo (n : 156)
Presente	122 (78,7%)	63 (40,4%)*
Ausente	33 (21,3%)**	93 (59,6%)**

* : $\chi^2 = 45,1$ $p < 0,00000$

** : $\chi^2 =$ No presentaron el fenómeno en ningún momento

*** : Seis escolares (10,2%) tuvieron excreción de H_2 espirado > 20 ppm en los primeros 90 minutos.

NSE: nivel socioeconómico.

Tabla 4

Patrones de curvas de excreción de hidrógeno espirado en escolares de niveles socioeconómicos alto y bajo

	NSE alto (n : 155)	NSE bajo (n : 156)
Planas	29 (18,7%)*	76 (48,7%)*
< 10 ppm a tiempo 0 < 20 ppm durante el estudio (240 min)		
Cúspide	122 (78,7%)**	63 (40,3%)**
> 20 ppm entre los 90 y 240 min		
≤ 10 ppm a tiempo 0	65 (53,3%***)	41 (65,1%***)
≥ 10 ppm a tiempo 0	57 (46,7%***)	22 (34,4%***)

* : $\chi^2 = 28,96$ $p < 0,0000001$

** : $\chi^2 = 45,10$ $p < 0,00000$

*** : $\chi^2 = 2,36$ ns

NSE: nivel socioeconómico

($p < 0,0001$). No hubo correlación entre los parámetros antropométricos y la excreción de H_2 .

Comentario

En los escolares que participaron en este estudio, la excreción de más de 20 ppm de H_2 en el aire espirado durante los primeros 90 minutos puede ser atribuida a la presencia de una flora anormal en duodeno y yeyuno^{9, 19, 22}. Este segmento es habitualmente estéril o presenta recuentos bacterianos que no exceden 103, principalmente bacterias aerobias o microaerófilas

Tabla 5

Excreción de hidrógeno en el aire espirado (> 20 ppm) durante los primeros 90 min o a los 90 a 240 min después de ingerir lactulosa en escolares de niveles socioeconómicos alto y bajo, según el tipo de dieta consumida el día anterior al examen

	Tiempo 0 a 90 min		Tiempo 90 a 240 min	
	NSE alto	NSE bajo	NSE alto	NSE bajo
Ayuno nocturno	6/10 (60,0%) $\chi^2 = 4,35; p < 0,037$ (1)	17/74 (23,0%)	7/10 (70,0%) $p < 0,120$ (3)	33/74 (44,6%)
Comida nocturna	67/145 (46,2%) $\chi^2 = 17,51; p < 0,00001$ (2)	14/78 (17,9%) $\chi^2 = 40,02; p < 0,00000$ (2)	114/145 (78,6%)	28/78 (35,9%)
Fibra escasa	59/113 (52,2%) $\chi^2 = 18,69; p < 0,00001$ (2)	24/125 (19,2%) $\chi^2 = 37,77; p < 0,00000$ (2)	88/113 (77,9%)	48/125 (38,4%)
Fibra moderada	15/40 (37,5%) $\chi^2 = 1,28; p < 0,257$ (2)	6/25 (24,0%)	30/40 (75,0%) $\chi^2 = 7,84; p < 0,005$ (4)	10/25 (40,0%)

(1) Corrección de Yates

(2) Chi cuadrado

(3) Prueba exacta de Fisher

(4) Mantel-Haenszel

NSE: nivel socioeconómico

provenientes de la cavidad nasal o la orofaringe^{23, 24}. En adultos jóvenes de NSE-B se ha encontrado que en la flora detectada en la primera asa del yeyuno predominaban los anaerobios⁹. Esto también fue observado por Klipstein y colaboradores en haitianos asintomáticos o con "sprue" tropical, en quienes el intestino alto estaba colonizado por enterobacteriáceas, algunas de las cuales sintetizaban diversos compuestos, entre ellos etanol^{25, 26}. Llama la atención que la proporción de escolares que excretaban H₂ en niveles superiores a 20 ppm fue significativamente mayor en el nivel socioeconómico alto. Esto concuerda con la demostración, en preescolares de NSE-A, de tasas mayores de portación asintomática de algunas bacterias que en grupos comparables de nivel bajo¹¹. Por otra parte, el riesgo de enfermar de fiebre tifoidea parece independiente del nivel socioeconómico y se ha relacionado más bien con las prácticas higiénicas en el hogar²⁷. Lo antedicho sugiere que la contaminación microbiológica del ambiente resulta de la interacción de múltiples factores entre los cuales el NSE no es el más importante.

La excreción de más de 10 ppm de H₂ en condiciones basales en una proporción de los escolares sugiere la existencia de contaminación intestinal. Nuevamente llama la atención que esto es más frecuente en escolares de NSE-A. Individuos con caries en las piezas dentales o mala higiene oral pueden tener excreciones basales de

H₂ elevadas^{28, 29}. Sin embargo, en nuestro estudio la mayor proporción de piezas con caries, incluso con destrucción de la corona y de enfermedad periodontal, se observó en los niños de NSE-B. Algunos niños de NSE-A usaban dispositivos para corregir problemas de ortodoncia, que pueden favorecer el desarrollo de una flora bucal anormal, pero su higiene oral parecía satisfactoria.

Tal como cabía esperar, una proporción alta de los sujetos estudiados presentaba cúspide colónica, con aumentos de H₂ en el aire espirado que excedían 20 ppm. Sin embargo, muchos niños no presentaron esta alza, aun cuando algunos tenían cúspide yeyunal. Otros nunca presentaron cúspides de excreción de H₂, es decir, sus niveles basales fueron inferiores a 10 ppm y no tuvieron incrementos mayores de 20 ppm después de ingerir lactulosa. Estos sujetos, llamados no productores, han sido también identificados en otros estudios^{30, 31}.

La dosis de lactulosa usada en este estudio produjo elevaciones definidas en los sujetos que excretaban H₂, lo que indica que fue adecuada para los fines de esta investigación. Dosis mayores tienen el inconveniente de producir soluciones hipertónicas o estimular el peristaltismo intestinal, efecto buscado en la investigación de algunas afecciones³⁴. Ninguno de los escolares en este estudio presentó molestias abdominales o diarrea.

La relación talla/edad era más elevada en los sujetos de NSE-A. Se prefirió este parámetro porque en escolares es más sensible que la relación peso/edad. En los escolares de NSE-A estos parámetros eran comparables a los de países desarrollados³⁵. Esto concuerda con otras publicaciones que muestran que el déficit de talla que se observa en sujetos de NSE-B se establece antes de los tres años de edad y genera una diferencia negativa con el NSE-A que no se recupera con el correr de los años. Se considera que dicho déficit en el resultado acumulativo de aportes dietarios límites y de infecciones repetidas, incluyendo la colonización anormal del intestino alto^{1, 36}. Teniendo en cuenta estos antecedentes, en este estudio el cálculo de la dosis de lactulosa se hizo en proporción al peso corporal, por lo que todos los sujetos recibieron dosis comparables.

Como la excreción de H_2 en el aire espirado puede ser explicada por procesos fermentativos colónicos provenientes de alimentos ingeridos en días anteriores, se efectuó un recordatorio de 24 horas en todos los sujetos con el fin de calcular en forma aproximada la ingestión de proteínas, energía y fibra dietaria. Se pudo determinar que la ingestión de fibra era en general baja y no se correlacionaba con las cúspides de H_2 ni con las etapas en que éstos se producían. Es posible que sustratos endógenos, principalmente el mucus intestinal, también contribuyan a la producción de H_2 durante su fermentación³². Esto explicaría los resultados obtenidos en un estudio en recién nacidos efectuado en Australia, en que se observó que la excreción de H_2 persistía en niveles altos, incluso durante el ayuno³³. Como todas las recolecciones iniciales de aire espirado en nuestro estudio se efectuaron después de ayunar y a la misma hora del día, es poco probable que los resultados hayan sido modificados por fenómenos de tipo circadiano. Tampoco se pudo correlacionar la excreción de H_2 con la ingesta en los días previos de medicamentos que pudieran alterar la flora o el peristaltismo intestinales.

La mayor proporción de productores de H_2 entre los escolares de NSE-A parece contradecir la hipótesis de que la contaminación microbiana del ambiente, y por lo tanto del intestino alto, son más frecuentes entre sujetos que viven en peores condiciones de saneamiento. Sin embargo, existe evidencia que sugiere que sujetos que viven en ambientes contaminados pueden tener una flora bacteriana anormal en el intestino

alto que no produce H_2 ³¹. Es posible que en los sujetos de NSE-A la cantidad o la calidad de su dieta modulen la flora intestinal que coloniza el intestino alto, de manera que una mayor proporción de ella produzca H_2 mientras que en el NSE-B se seleccione una flora no productora^{24, 37, 38}.

En resumen, los resultados de este estudio demuestran que en una proporción de los escolares el intestino alto está colonizado, lo que sugiere que la enteropatía ambiental ya está presente en esta edad. El hallazgo de niveles menores de excreción de H_2 en los niños de NSE-B nos lleva a proponer la hipótesis que diferencias en las dietas modularían la calidad de la flora que coloniza el segmento duodenoyeyunal.

Resumen

La contaminación microbiológica del ambiente produce enteropatía ambiental crónica, caracterizada por cambios morfofuncionales en el intestino delgado. En 311 escolares, 155 de NSE-A y 156 NSE-B, se evaluó la colonización bacteriana midiendo H_2 en el aire espirado, en muestras en ayunas y cada 15 minutos, durante 240 min, después de ingerir 150 mg•kg de lactulosa. Una encuesta de salud incluyó información acerca de ingesta de medicamentos y alimentos, consumo de alcohol o tabaco e intolerancia a alimentos. En 30% de los niños el nivel basal de excreción de H_2 excedía 10 ppm. En 18,1% del NSE-A y 4,5% del NSE-B ($p < 0,0001$) los máximos de excreción de H_2 superaron 20 ppm en los primeros 90 min. Se detectó cúspide colónica (> 20 ppm) en 78,7% del NSE-A y 40,4% del NSE-B ($p < 0,0000$). En 18,7% y 48,7% del NSE-A y NSE-B, respectivamente, las curvas fueron planas (nivel basal < 10 ppm y aumentos posteriores < 20 ppm). La enteropatía ambiental crónica ya está presente en escolares. La menor excreción de H_2 en el nivel socioeconómico bajo podría explicarse por efectos relacionados con la dieta.

(Palabras clave: enteropatía, contaminación microbiana, excreción respiratoria de H_2 , lactulosa, escolares, nivel socioeconómico.)

Agradecimientos

Los autores desean expresar sus agradecimientos a los niños que participaron con paciencia y entusiasmo en este

estudio, a las autoridades y profesionales de enfermería de los colegios involucrados. También se desea expresar reconocimiento a la Dra. Sylvia Cruchet, a la Enfermera Sra. Mireya Figueroa, a la Tecnóloga Médico Sra. Ana María Alieni, a la Sra. Mirta Díaz por el análisis estadístico y a la Sra. Adriana Díaz Morales.

Referencias

1. *Mata LJ*: The children of Santa María Cauqué. Cambridge: MIT Press, 1978.
2. *Troncale FJ, Keusch GT, Miller LH, Olson RA, Buchanan RD*: Normal absorption in Thai subjects with nonspecific jejunal abnormalities. *Br Med J* 1967; 2: 576-81.
3. *Lindenbaum J, Jamiul Alam AKM, Kent TH*: Subclinical small intestinal disease in East Pakistan. *Br Med J* 1966; 2: 1616-20.
4. *Brunser O, Eidelman S, Klipstein FA*: Intestinal mucosa in rural Haitians. A comparison between overt tropical sprue and asymptomatic subjects. *Gastroenterology* 1970; 58: 655-68.
5. *Maitan M, Maitan VI, Baker SJ*: An electromicroscopic study of jejunal mucosal morphology in control subjects and patients with tropical sprue in Southern India. *Gastroenterology* 1975; 68: 17-32.
6. *Perea VD, Cruz VM, Fernán-Zegarra L, Ballón R, Picoaga JL*: Non-specific ileo-jejunitis in Arequipa, Peru. *Lancet* 1978; 2: 550-2.
7. *Thomas G, Clain DJ, Wicks ACB*: Tropical enteropathy in Rhodesia. *Gut* 1976; 17: 888-94.
8. *Brunser O, Espinoza J, Araya M*: Role of the gastrointestinal tract in energy and protein metabolism. En: Scrimshaw NS y Schürch B, eds. Protein-energy interactions. Lausana: IDECG 1992; 297-305.
9. *Brunser O, Araya M, Espinoza J, Figueroa G, Pacheco I, Lois I*: Chronic environmental enteropathy in a temperate climate. *Human Nutr: Clin Nutr* 1987; 41C: 251-61.
10. *Espinoza J, Brunser O, Araya M, Egaña JI, Pacheco I, Krause S*: The effect of dietary fibre on digestibility of nutrients in a typical diet. En: Rand WM, Uauy R y Scrimshaw NS, eds. Protein-energy requirement studies in developing countries; results of international research. Tokyo: UNU Press, 1984; 294-305.
11. *Araya M, Figueroa G, Espinoza J, Zarur X, Brunser O*: Acute diarrhoea and the carrier state in Chilean preschoolers of the low and high socio-economic strata. *Acta Paediatr Scand* 1986; 75: 645-51.
12. *Espinoza J, Araya M, Pacheco I, Figueroa G, Spencer E, Brunser O*: Diarrea aguda en una población infantil marginal de Santiago de Chile. En: AE Lates, M Farren, J MacDonald, eds. Salud, enfermedad y muerte de los niños en América Latina. Buenos Aires: La Técnica Impresora. 1989; 207-23.
13. *Spencer E, Araya M, Sandino AM, Pacheco I, Brunser O*: Faecal excretion of rotavirus and other enteropathogens in newborns of the high and low socio-economic stratum in Santiago, Chile. *Epidemiol Infect* 1988; 101: 425-36.
14. *Levitt MD, Donaldson RM*: Use of respiratory hydrogen (H_2) excretion to detect carbohydrate malabsorption. *J Lab Clin Med* 1970; 75: 937-45.
15. *Rhodes JM, Middleton P, Jewell DP*: The lactulose hydrogen breath test as a diagnostic test for small-bowel bacterial overgrowth. *Scand J Gastroenterol* 1979; 14: 333-6.
16. *Solomons NW*: Evaluation of carbohydrate absorption: the hydrogen breath test in clinical practice. *Clin Nutr J* 1984; 3: 71-8.
17. *Pereira SP, Khin-Maung-U, Bolin TD, Duncombe VM, Nyuni-Nyunt-Wai, Myo-Khin, Linklater JM*: A pattern of breath hydrogen excretion suggesting small bowel bacterial overgrowth in Burmese village children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991; 13: 32-8.
18. *Graffar M*: Etude d'agglomération en cinq cent familles d'une commune de l'agglomération bruxelloise. Laboratoire de Médecine Sociale, Université Libre de Bruxelles. Brussels, Belgique, 1957.
19. *Alvarez ML, Wurgafi F, Salazar ME*: Mediciones de nivel socio-económico bajo urbano en familias con lactantes desnutridos. *Arch Latinoam Nutr* 1982; 32: 325-31.
20. *Hamill PV, Drizd TA, Johnson CH, et al.*: Physical growth. National Health Center for Health Statistics percentiles. *Am J Clin Nutr* 1979; 32: 607-29.
21. *Kleinbaum DG, Kupper LL, Morgenstern H*: Epidemiologic research. Principles and quantitative methods. New York: Van Nostrand-Reinhold CO. 1982.
22. *Ostrander Cr, Cohen R, Hopper AO, Shahin SM, Kerner Jr JA, Johnson JD, Stevenson DK*: Breath hydrogen analysis: a review of the methodologies and clinical applications. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1983; 2: 525-33.
23. *Challacombe DN, Richardson JM, Anderson CM*: Bacterial flora of the upper gastrointestinal tract in infants without diarrhoea. *Arch Dis Child* 1974; 49: 264-9.
24. *Simon GL, Gorbach SL*: Intestinal flora and gastrointestinal function. En: Johnson LR, ed. Physiology of the gastrointestinal tract. Nueva York: Raven Press, 1987; 1729-47.
25. *Klipstein FA, Holdeman LV, Corcino JJ, Moore WEC*: Enterotoxigenic intestinal bacteria in tropical sprue. *Ann Intern Med* 1973; 79: 632-41.
26. *Klipstein FA, Engert RF, Short H*: Enterotoxigenicity of colonizing coliform bacteria in tropical sprue and blind-loop syndrome. *Lancet* 1978; 2: 342-4.
27. *Alvarez ML, Wurgafi F, Araya M, Espinoza J*: Typhoid fever in children of low and high socioeconomic strata: comparison of hygiene habits. *Rev Saúde Públ., S. Paulo* 1990; 24: 108-12.
28. *Mastroiolo G, Rees DW*: Evaluation of the hydrogen breath test in man: definition and elimination of the early hydrogen peak. *Gut* 1987; 28: 721-5.
29. *Thompson DG, O'Brien AD, Hardie JM*: Influence of the oropharyngeal microflora on the measurement of exhaled breath hydrogen. *Gastroenterology* 1986; 91: 853-60.
30. *Barr RG, Hanley J, Kingsnorth Patterson D, Wooldridge J*: Breath hydrogen excretion in normal newborn infants in response to usual feeding patterns: evidence for functional lactase insufficiency beyond the first month of life. *J Pediatr* 1984; 104: 527-33.

31. *Khin-Maung-U, Tin-Aye, Ku-Tin-Myin, Tin-Oo, Myo-Khin, Thackway SA, Connor SJ, Bolin TD, Duncombe VM*: In vitro hydrogen production by enteric bacteria cultured from children with small bowel bacterial overgrowth. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1992; 14: 192-7.
32. *Hoskins LC, Agustines M, McKee WB, Boulding ET, Kriaesis M, Niedermayer G*: Mucin degradation in human colon ecosystems. *J Clin Invest* 1985; 75: 944-53.
33. *Miller JB, Bokdam M, McVeagh P, Miller JJ*: Variability of breath hydrogen excretion in breast-fed infants during the first three months of life. *J Pediatr* 1992; 121: 410-3.
34. *Treem WR*: Hepatic failure. En: Walker WA, Durie PR, Hamilton JR, Walker-Smith JA, Watkins JB. Vol. I. Pediatric gastrointestinal disease. Filadelfia: BC Decker Inc. 1991; 146-92.
35. *Falkner F*: Growth Monitoring: fetus to the first two postnatal years. En: Brunser O, Carrazza FR, Gracey M, Nichols BL, Senterre J, eds. Clinical nutrition of the young child. Nueva York: Raven Press. 1991: 23-38.
36. *Mariorelli R, Rivera J, Kaplowitz H*: Consequences of stunting in early childhood for adult body size in rural Guatemala. *Ann. Nestlé* 1990; 48: 85-92.
37. *Gorbach SL, Nahas L, Lerner PI, Weinstein L*: Studies on intestinal microflora. I. Effects of diet, age, and periodic sampling on numbers of fecal microorganisms in man. *Gastroenterology* 1967; 53: 845-55.
38. *Finegold SM, Sutter VL*: Fecal flora in different populations, with special reference to diet. *Am J Clin Nutr* 1978; 31: S116-S122.