

GASTROENTEROLOGIA PEDIATRICA

ACTUALIZACION

BACTERIOLOGIA DEL TRACTO DIGESTIVO EN EL NIÑO *

U. FAGUNDES NETO *

Hospital Sao Paulo, Escola Paulista de Medicina, Sao Paulo, Brasil

Digestive tract bacteriology in children

Acta Gastroent. Lat. Amer. 5: 195-212, 1973.

INTRODUCCIÓN

Desde el comienzo de este siglo ya se atribuía importancia a la microflora entérica y el interés en estudiarla ha ido en aumento. Durante los años 1912 a 1932 varios investigadores (10, 117, 124, 131, 186, 198) estudiaron la flora bacteriana normal del tracto digestivo, obteniendo muestras de jugo intestinal por medio de sondas introducidas por vía oral. Estos investigadores llegaron a la conclusión de que el intestino delgado era un órgano que virtualmente no contiene organismos en su porción superior y que a lo largo del mismo va adquiriendo una flora numéricamente creciente.

En 1953, Cregan y Hayfard (32) utilizando técnicas de punciones intestinales en pacientes sin patología digestiva y que se operaban por problemas ginecológicos, verificaron que el intestino delgado no posee una flora estable y que los organismos encontrados eran escasos, debiendo ser con-

siderados como contaminantes transitorios y que pasan a través del tubo digestivo con los alimentos. Los mismos autores, no concuerdan con publicaciones anteriores y cuestionan la técnica por sondeo como medio de estudio de la bacteriología del intestino. Hacen hincapié que por medio del sondaje no se puede determinar con precisión el nivel de la toma de material, que existe posibilidad de contaminación de las muestras por microorganismos de las porciones superiores, multiplicación de los organismos adentro del lumen del tubo si es dejado en posición por un largo período de tiempo y, finalmente, la sonda produciría una alteración en la motilidad intestinal.

En 1958, Anderson (1) estudió el contenido bacteriano aeróbico del intestino en niños normales y con patología gastrointestinal, utilizando tanto el método de punción de intestino como el de sondaje sin ocluir la sonda. A partir de sus resultados llegó a la conclusión que el método de sondaje abierto es de valor limitado para estudiar la flora intestinal, por lo menos en niños.

* Revisión bibliográfica realizada durante el período de beca otorgado por la Escuela Paulista de Medicina en el Policlínico "Alejandro Posadas". Servicio de Pediatría. Argentina.

En 1963, Shiner (176) introdujo una nueva cápsula para obtención de muestras de intestino. Es una cápsula de cierre hermético y evita la contaminación bacteriana. En 1967, Gorbach (76) estudió la microflora intestinal en adultos sanos utilizando como medio de obtención del material un tubo de polivinilo estéril con una bolsa de mercurio atada distalmente e introducida por vía oral, determinando luego la microflora aerobia y anaerobia del tracto digestivo. Como utilizó una sonda abierta está sujeto a las observaciones formuladas por Cregan, (32) aunque hace una serie de comentarios criticando el método de punción intestinal en pacientes quirúrgicos.

Recientemente hemos introducido una sonda que a nuestro juicio reúne las condiciones adecuadas para su uso pediátrico, donde no es fácil utilizar sondas de grueso calibre. (187)

En la última década se ha puesto de manifiesto la importancia de la flora bacteriana intestinal y se ha verificado el sobrecrecimiento bacteriano en varias patologías digestivas y extradigestivas en especial las bacterias anaerobias (57, 204, 207) con consecuencias que discutiremos.

FLORA BACTERIANA DEL TRACTO DIGESTIVO

La compleja naturaleza de la población bacteriana del intestino es enfatizada por la variedad de especies normalmente presentes y por los diversos factores que influyen en su desarrollo y mantenimiento. Las especies generalmente presentes en mayor número y frecuencia son consideradas "residentes" del tracto digestivo. Los organismos encontrados con menor frecuencia y relativamente en menor número son considerados "contaminantes" siendo residentes del tracto respiratorio o ingeridos con la comida.

Hasta hace poco tiempo se pensaba que la flora bacteriana era predominante en coliformes. Actualmente, con las nuevas técnicas para cultivo de anaerobios (47) se ha comprobado que las bacterias domi-

nantes en el intestino son los anaerobios no esporulados.

Dependiendo de las técnicas utilizadas para obtención de muestras existe cierta variación con la composición de la flora intestinal relatada por distintos investigadores (1, 6, 25, 26, 32, 42, 48, 52, 74, 77, 99, 116, 149) variación que puede relacionarse según la muestra sea obtenida con el paciente en ayunas o después de haber comido. (48)

De una manera general se acepta que el tracto digestivo superior es estéril (estómago, duodeno, yeyuno e ileon superior) en 68 a 71 % de los casos (42, 48) o que presenta una escasa microflora constituida por microorganismos facultativos, predominantemente Gram +. Estreptococos, lactobacilos aerobios, difteroides y hongos son los mayores constituyentes y su concentración total es generalmente menor que 10^4 por ml de jugo intestinal. Estos microorganismos son capaces de sobrevivir a la acidez gástrica y provienen de la cavidad oral colonizando el estómago y el intestino superior después de las comidas, (48) aunque en pacientes en ayunas se observa la presencia de reducida cantidad de estos microorganismos. (79)

Algunos investigadores (43, 101, 116) relatan bajas concentraciones de coliformes (menos de 10^4) en el intestino superior de controles.

La porción terminal del ileon representa una zona de transición y la microecología empieza a cambiar con la aparición de microorganismos Gram-, como coliformes y bacteroides anaerobios.

La válvula ileo-cecal actúa como una verdadera barrera entre las especies Gram+ predominantes en el intestino delgado superior y los microorganismos Gram- del colon. De particular importancia es el aumento en la población de anaerobios. Bacteroides, lactobacilos anaerobios y clostridios son los mayores constituyentes de la flora colónica en concentraciones que varían de 10^8 a 10^{11} por ml, sobrepasando la microflora facultativa o aeróbica, como coliformes en una proporción de 1.000 a 10.000: 1. (76)

TABLA I. Distribución de la flora intestinal

	Concentración de los gérmenes	Gérmenes aislados
Estómago Yeyuno Ileon superior	menos que 10^4 /ml	Predominio de Gram + estreptococos, lactobacilos, hongos, difteroides y algunos coliformes.
Ileon inferior	$10^5 - 10^8$ /ml	Además de la flora anterior aparecen Gram- (bacteroides y coliformes).
Colon	$10^9 - 10^{11}$ /ml	Predominio de anaerobios 95 % bacteroides, bifidobacteria, clostridia.
Heces	10^{12} /gr	Idem a colon.

La flora fecal es predominante en microorganismos anaerobios Gram - (68, 80) que sobrepasan a los aerobios en la proporción de 1.000 a 10.000: 1, encontrándose en la concentración de 10^{12} por gramo de heces. Las bacterias estrictamente anaerobias representan más de el 90 % de la flora fecal.

En la saliva se encuentran todos los grupos de bacterias (estreptococos, neisseria, veillonella, fusobacterias y hongos) representados en las heces, aunque las proporciones sean distintas. (48)

Estos datos referentes a la flora bacteriana del trato digestivo son en su mayoría obtenidos de adultos. Creemos que no tienen validez para niños que reciben alimentación láctea, pero sí para los que hacen una alimentación general. Nuestros estudios en pacientes pediátricos hasta el momento parecen confirmar esta idea. (188)

El tracto digestivo del feto es estéril. (52) En el momento del nacimiento ocurre una masiva invasión bacteriana por la microflora fecal, de la piel de la madre y del medio ambiente, resultando una rápida colonización del tracto digestivo, incluyendo el meconio. (99)

Bajo la influencia de la leche materna una microflora consistente en 99 % de lactobacilos bífidos se desarrolla en los 3 a 4 primeros días de vida, con una importante reducción o ausencia de bacterias putrefactivas. (95, 100) En niños alimentados con leche de vaca las bifidobacterias permanecen como una importante parte de la flora cultivable. Bacteroides (anaerobios Gram-) están presentes en igual número o más numerosos que las bifidobacterias. Algunos componentes regulares de la mi-

TABLA II. Gérmenes aislados

Aerobios	Anaerobios
Levaduras	Peptococo
Estreptococo	Peptoestreptococo
Estafilococo	Veillonella
Enterobacterias	Bacteroides
E. coli	Fusobacteria
Klebsiella	Bifidobacteria
Citrobacter	Clostridia
Proteus	
Neisseria	

croflora fecal, los aerobios principalmente (coliformes, estreptococos y lactobacilos) comprenden menos de el 5 %, mientras clostridia, estafilococos, proteus y hongos ocurren en pequeño número (menos que el 0,0001 %). (5, 14)

La microecología fecal entre los niños alimentados con leche de vaca, niños mayores y adultos no presenta grandes diferencias. (99)

En las tablas I y II esquematizamos la microflora intestinal en sus variados niveles y una lista de las bacterias que pueden ser encontradas en el tracto digestivo y heces de individuos normales.

FACTORES QUE REGULAN EL DESARROLLO Y MANTENIMIENTO DE LA FLORA INTESTINAL

El tracto gastrointestinal no puede funcionar normalmente si no existe una microflora adecuada. El animal libre de gérmenes posee el ciego dilatado e hipotónico. El tejido linfoide del tracto digestivo está poco desarrollado y los niveles séricos de gammaglobulina son extremadamente bajos. (53) Histológicamente la pared intestinal de los animales libres de gérmenes es fina y elástica. La mucosa es distinta de la de los animales convencionales por la ausencia de células inflamatorias en la lámina propia (inflamación fisiológica). El organismo posee mecanismos reguladores para equilibrio, impidiendo un sobredesarrollo de su microflora o de la colonización del intestino por bacterias consideradas patógenas.

El antiguo concepto de la "barrera bactericida gástrica" (20, 33, 69, 173, 112, ha sido recientemente comprobado. (71, 177, 179) Gianella (71) verificó que individuos hipoclorhídricos o aclorhídricos presentan enteritis por salmonella más severas y con grandes pérdidas de líquidos y electrolitos, en comparación con individuos normoclorhídricos. (73) En individuos normoclorhídricos se demostró que existe una actividad bactericida intragástrica, cuyo mecanismo depende del ácido clorhídrico. (71) Se piensa que un pH elevado en el estómago

permite que bacterias de la boca e ingeridas sobrevivan y se multipliquen. (66, 177)

Las sales biliares (59) y la motilidad intestinal (40, 48) también actúan de manera importante controlando la población bacteriana del intestino delgado.

El sistema inmunosecretor del intestino es regulador de la flora intestinal y también tiene actividad en la resistencia intestinal contra la invasión de patógenos. La mucosa intestinal posee la capacidad de disponer de respuestas inmunológicas locales que son distintas e independientes de la respuesta sérica. (41) Estudios con inmunofluorescencia revelan una marcada predominancia en la mucosa intestinal de células conteniendo IgA (28, 115, 170) que superan las células productoras de IgM e IgG en una proporción de 20:3:1 respectivamente. Esta forma de IgA es la inmunoglobulina predominante en todas las secreciones mucosas (114) y es llamada IgA secretoria. Esta inmunoglobulina posee ligada a su molécula una proteína separable que es llamada "la parte secretora". (151) Este componente confiere a la molécula de la IgA una resistencia a la digestión enzimática por las enzimas proteolíticas del intestino. (182, 193, 194) La parte secretora puede ser encontrada libre en secreciones de individuos que no poseen células plasmáticas productoras de IgA, lo que indica que el sistema secretor es fabricado afuera de las células plasmáticas. La molécula completa de IgA secretora es secretada directamente desde la mucosa en respuesta a un estímulo local, sin estar necesariamente involucrada la inmunidad sistémica. (181)

En Pediatría, especialmente en el período de lactancia, este sistema presenta singular importancia. El recién nacido tiene escasas células plasmáticas en la mucosa intestinal (185) presentando, por lo tanto, una baja producción de anticuerpos locales. En contrapartida, el calostro es extremadamente rico en IgA, (105, 119, 140) generalmente conteniendo más por unidad de volumen que el suero materno. (192) Es el transportador de anticuerpos activos contra bacterias y virus (106, 168) prote-

giendo al recién nacido sin impedir el desarrollo de inmunidad activa. La cantidad de IgA disminuye rápidamente cuando ocurre transición de calostro a leche. Sin embargo, una considerable cantidad permanece en la leche hasta el final de la lactancia.

Estudios recientes de la respuesta inmunosecretora del intestino durante infecciones agudas con cólera, (67) *E. coli* (70, 138) y *Shigella* (163) demuestran que el anticuerpo en el jugo intestinal existe bajo las formas de IgG, IgM e IgA.

Soltoft (180) estudiando las células que contienen inmunoglobulinas en el intestino delgado durante enteritis aguda verificó un acentuado aumento de células conteniendo IgA y menor de células conteniendo IgM. La mayor parte de la IgA en la superficie del tracto gastrointestinal ocurrió bajo la forma de IgA secretora. El aumento de células productoras de IgA durante enteritis fue de 50-60 %.

ASPECTOS DE INTERES DE LA FISIOLOGIA DE LA DIGESTION Y ABSORCION DE LOS NUTRIENTES

Una gran cantidad de fluido entra diariamente en el lumen del intestino delgado proveniente de la secreción endógena y de la dieta. El volumen diario de este líquido isotónico con el plasma, es aproximadamente 9 l. y solamente 150 a 200 ml son excretados con la materia fecal (161, 178) en adultos normales. Las secreciones del tracto digestivo en un adulto están compuestas de la siguiente forma. 1) saliva 1.000 ml/día, (183), 2) secreción gástrica 2.000 ml/día (46), 3) secreción biliar 1.000 ml/día y pancreática 2.000 ml/día, (167) y 4) la secreción del intestino delgado 1.000 ml/día. (154) La dieta contribuye con aproximadamente 2.000 ml/día.

El agua es absorbida a lo largo de todo el intestino con distintos grados de eficiencia. Del volumen total de líquido (9 l.) que recorre diariamente el tracto digestivo el 45 % del agua es absorbida en el intestino delgado superior, con un total de 4 litros. El ileon absorbe 70 % del volumen

restante, o sea, 3,5 litros y de los 1,5 litros que llegan al colon es absorbido el 85 %. Por lo tanto, en valores absolutos los volúmenes absorbidos son mayores en el intestino superior y decrecen a medida que acercan al colon. (137) El mecanismo de absorción de agua aumenta cuando la solución es isotónica y contiene sodio y glucosa. Estudios de perfusión revelan una absorción isosmótica de sodio y agua en el colon. (60) Teóricamente el contenido colónico debería ser isosmótico con el plasma, pero la osmolaridad de la materia fecal es cerca de 370 mOsm/l. (205) Esto puede deberse a la presencia de substratos que son fermentados por bacterias, principalmente hidratos de carbono, en partículas menores. (145, 147)

El sodio puede ser absorbido por mecanismos dependientes de energía (transporte activo) (172, 175) que es capaz de transportarlo desde el lumen intestinal hacia la sangre, contra gradiente de concentración química. El sodio es absorbido contra potenciales electroquímicos que aumentan gradualmente a medida que se aproxima al colon. (7, 60) El transporte activo de sodio aumenta en presencia de soluciones conteniendo glucosa y ciertos aminoácidos, que favorecen su absorción. (61) El sodio puede ser absorbido por arrastre a través de los poros de la mucosa. Estos disminuyen de tamaño en el sentido del intestino distal. (7, 60, 62)

La absorción de potasio en el intestino delgado es por difusión pasiva, dependiente del gradiente de concentración química. (155, 157) La concentración de potasio en el agua de la materia fecal es mayor que la plasmática y la excede hasta en 100 mEq/l. (205) La reducción del volumen del contenido colónico determina un aumento de la concentración de potasio en relación a la concentración ileal, aunque la secreción de potasio a través de la mucosa colónica también ocurre. (195) La secreción de potasio en el colon ocurre cuando soluciones conteniendo menos de 15 mEq/l de potasio pasan por él y se produce absorción cuando la concentración de potasio en la solución es mayor que 15

mEq/l. (38) Experimentos en animales sugieren que la secreción de potasio es pasiva dependiente de la diferencia de potencial establecida por la absorción activa de sodio. (27) Mientras tanto, Edmonds y Godfrey (54) estudiando diferencias de potencial del recto en humanos y electrolitos en materia fecal, concluyen que la secreción de potasio es mayor de la que se podría esperar por difusión pasiva, admitiendo un mecanismo de secreción activa.

La absorción de los aniones es más compleja. Cloruro y bicarbonato pueden ser absorbidos conjuntamente en el yeyuno, pero en el colon son antagonicos. El agua fecal contiene cerca de 15 mEq/l de cloruro. (205) El cloruro es absorbido en el colon contra un gradiente de concentración. (38) Como la secreción de bicarbonato ocurre durante la absorción de cloruro (38) se creyó que éste es absorbido por un proceso recíproco de intercambio de iones por bicarbonato. La anhidrasa carbónica, presente en altas concentraciones en la mucosa colónica (114), puede catalizar la producción de bicarbonato.

Las proteínas de la dieta son digeridas por las enzimas pancreáticas, activadas por la enteroquinasa (98) a oligopéptidos y dipéptidos. Las dipeptidasas, (136) localizadas en la célula epitelial de la mucosa intestinal, hidrolisan los dipéptidos a aminoácidos que son absorbidos por transporte activo. (169)

Los hidratos de carbono que componen la dieta de niño con alimentación mixta y del adulto son almidón (60%), sacarosa (30%) y lactosa (10%). El niño con alimentación láctea exclusiva recibe el mayor aporte en forma de lactosa.

El ribete en cepillo de la célula columnar intestinal es donde se produce la actividad hidrolítica más importante. (30)

El almidón (80% de amilopectina y 20% de amilosa) es digerido por la alfa amilasa salivar y pancreática. Esta es capaz de hidrolizar solamente las ligaduras interiores 1-4 alfa glucosa-glucosa. No posee especificidad para las ligaduras ramificadas 1-6 alfa y posee actividad marcadamente reducida sobre las ligaduras 1-4

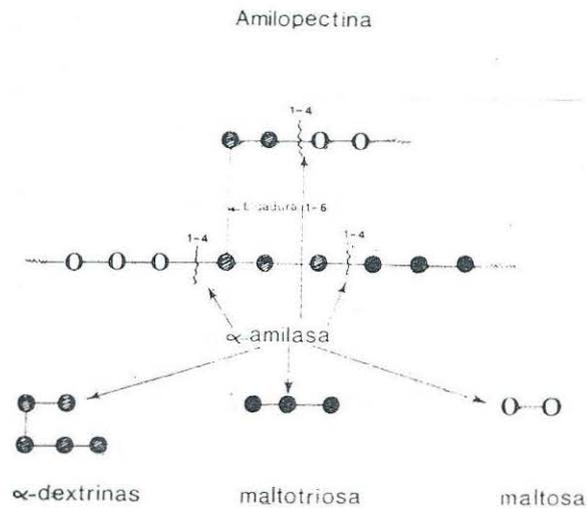


Figura 1

alfas adyacentes. Debido a la baja especificidad de la alfa amilasa sobre las ligaduras externas de la molécula de almidón la glucosa no es formada en condiciones fisiológicas, en virtud del relativo corto período de tiempo de exposición del substracto con la enzima en el intestino. Myrbäck y Whelan (147) establecieron que la maltosa, la maltotriosa y las alfa dextrinas son los productos finales de la acción de la alfa amilasa en condiciones fisiológicas. (Fig. 1.)

La amilasa posee actividad en el lumen intestinal, (34) pero su mayor actividad es ejercida cuando está adherida a la superficie de la mucosa intestinal (digestión de membrana). (197)

Los productos de la acción de la alfa amilasa, así como los otros disacáridos de la dieta son digeridos por enzimas altamente específicas (maltasa, sacarasa o invertasa y lactasa) localizadas en el ribete en cepillo de la célula intestinal. (55, 65) También existe una enzima con actividad hidrolítica para las ligaduras 1-6 alfa glucosa-glucosa, llamadas isomaltasa o alfa dextrinasa. (35, 128)

La hidrólisis del disacárido se realiza en el lado externo de la membrana intestinal y por fuera de la barrera de permeabilidad de la célula, (31, 90) puesto que se verificó que cantidades considerables de mo-

nosacáridos se mueven del punto de hidrólisis de la mucosa hacia el lumen intestinal. (91, 92)

Un mecanismo específico permite la entrada de glucosa y galactosa a través de la membrana lipoproteica de la célula intestinal. La glucosa se liga a una macromolécula específica en la porción externa del ribete en cepillo y es transportada hacia la célula, adonde es liberada como glucosa libre, se difunde por el citoplasma y sale por el polo basal (93) de la célula, directamente en el capilar sanguíneo.

La frutosa es transportada por un mecanismo diferente, es probable que sea absorbida por un mecanismo de transportador, (135) pero hasta el momento no está confirmado.

El proceso de digestión y absorción de las grasas puede ser dividido en 4 fases. Las dos primeras, lipólisis y solubilización micelar incluye digestión intraluminal. Las otras dos, captación por la mucosa y liberación a la circulación corresponden a procesos de absorción y transporte celular. La mayor parte de la grasa de la dieta es grasa neutra o triglicéridos. Después de la ingestión, la grasa sufre los procesos hidrolíticos en el intestino delgado por la lipasa pancreática. Esta enzima ataca las ligaduras esterés en posiciones alfa y alfa' con la formación de ácidos grasos libres y beta monoglicéridos. (126) Estos productos así como los triglicéridos originales son insolubles en agua y para su solubilización es necesario la presencia de las sales biliares. (107, 109)

Las sales biliares son producidas en el hígado derivadas del colesterol por bi y tri hidroxilación. Los ácidos biliares primarios son los ácidos cólico y quenodeoxicólico que se conjugan con glicina y taurina en una proporción dominante de taurina de 3:1, (13) y los ácidos biliares secundarios son los ácidos deoxicólico y lito-cólico.

Las sales biliares son coloides asociados y su transformación de una solución ordinaria a una solución micelar (agregado molecular en alta concentración) ocurre por encima de una concentración, (107)

llamada "concentración micelar crítica".

La micela posee un grupo polar que es hidrosoluble y una porción no polar que es soluble en grasa. (102) Esto le confiere la propiedad de solubilizar los ácidos grasos libres y monoglicéridos formando la micela mixta. (22)

En la membrana el ácido graso y el monoglicérido son absorbidos por difusión pasiva hacia la célula epitelial adonde ocurre la reesterificación de los ácidos grasos y monoglicéridos, con la formación del quilomicrón. (113) El quilomicrón es liberado en el polo basal de la célula epitelial hacia los linfáticos y sigue por estos hasta el conducto torácico y circulación general. (Fig. 2.)

Las sales biliares también son reabsorbidas y así una constante reutilización. Las sales biliares son reabsorbidas activamente en el ileon, (108) pero la absorción en todo el intestino también ocurre. (39, 128) Los ácidos biliares absorbidos entran por la sangre portal y son inmediatamente vueltos a ser segregados por el hígado hacia la bilis. Normalmente 96 % del "pool" es reabsorbido durante cada ciclo de la circulación enterohepática y circula por día de seis a diez veces.

SOBRECRECIMIENTO BACTERIANO

Una flora bacteriana intestinal aumentada y anormal puede desarrollarse en asociación con ciertas enfermedades del estómago e intestino delgado. Bacterias de tipo fecal pueden colonizar el intestino

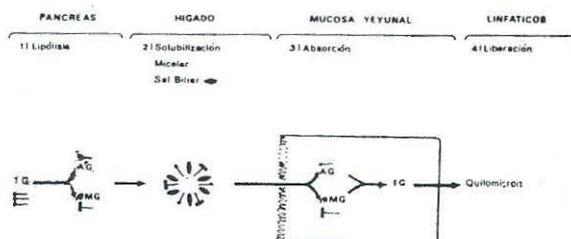


Figura 2

TG: Triglicéridos
 AG: Ácidos grasos
 BG: β Monoglicéridos

delgado superior y, bajo ciertas circunstancias, pueden causar malabsorción de grasas y vitamina B₁₂, e interferir con el metabolismo de otras vitaminas y proteínas de la dieta. Esta situación se denominó "síndrome de asa ciega".

Actualmente se han descrito una gran variedad de entidades clínicas que pueden presentar sobrecrecimiento bacteriano a nivel del intestino delgado. Esprue tropical, (81, 82, 83) hipogamaglobulinemia, (16, 17, 103, 152, 164) escleroderma, (166) divertículo único de duodeno, (49, 75) diverticulosis múltiple del intestino delgado, (50, 153, 162), malabsorción post gastrectomías, (49) enteritis por radiación, (78) resección ileal, (84, 125) resecciones intestinales, (49) enteritis regional, (157) enfermedad celíaca, (157) hipoclorhidria o aclorhidria gástrica, (48) desnutrición (81) y neuropatía visceral (diabetes y amiloidosis) (114) son enfermedades que generalmente cursan con sobrecrecimiento bacteriano.

Por motivos no totalmente aclarados el intestino delgado pasa a presentar condiciones de colonización por bacterias colónicas, principalmente las anaerobias. Estos gérmenes se desarrollan en concentraciones tales que en general sobrepasan a 10⁴/ml. Ciertas bacterias como enterococo, bacteroides, clostridia, bifidobacteria y veillonella poseen la capacidad de desconjugar las sales biliares. (20, 50, 51, 175)

Normalmente, los microorganismos residentes en el intestino distal, hidrolizan las sales biliares conjugadas que no fueran reabsorbidas (4%) para formar sales biliares libres. La desconjugación bacteriana de los ácidos cólicos y quenodeoxicólico, conjugados con glicina y taurina, ocurre rápidamente y puede ser demostrada con heces recién emitidas y con cultivos puros de varios microorganismos del intestino. (44)

La desconjugación de las sales biliares a nivel del intestino delgado superior debido al sobrecrecimiento bacteriano, (50, 165) lleva a una reducción de la concentración de las sales biliares abajo de la "concentración micelar crítica" perjudican-

do la formación de la micela mixta e impidiendo la solubilización adecuada de los ácidos grasos libres y monoglicéridos, con la consecuente esteatorrea. (121)

Las bacterias también poseen la capacidad de remover el grupo hidróxilo en posición 7 alfa (7 alfa deshidroxilación) de la molécula de la sal biliar. Esto resulta en la conversión de ácido cólico en deoxicólico que posee acción tóxica sobre la mucosa del intestino delgado, (37, 45, 143) interfiriendo en los procesos normales de absorción.

Recientemente, Rubin y cols., (166) estudiando la patogénesis de la malabsorción en pacientes con síndrome de asa ciega verificó alteraciones importantes en la histología del intestino delgado. Además, sugiere que la patogénesis de la esteatorrea en estos pacientes es debida más a alteraciones en la célula absorptiva, por una serie de factores (defecto intrínseco de la mucosa, invasión bacteriana, acción tóxica de las sales biliares no conjugadas, lesión de la mucosa por toxinas bacterianas que a una formación defectuosa de micelas.

La fisiopatogenia de la diarrea en esteatorreas debe incluir el efecto producido por la transformación bacteriana de los ácidos grasos de cadena larga a ácidos grasos hidroxilados, (104) por procesos de hidratación de las dobles ligaduras de los ácidos grasos insaturados como ácido oleico y ácido linoleico. (122, 184, 199) El mecanismo de acción es semejante al del ácido ricinoleico que promueve secreción de agua y electrolitos a nivel del intestino delgado (200) y colon. (156)

Muchas especies de microorganismos aerobios y anaerobios pueden consumir vitamina B¹², y en el síndrome de asa ciega, parece ser debida a una competencia directa de las bacterias entéricas por dicha vitamina de la dieta. (11, 44) Las bacterias también pueden utilizar las proteínas de la dieta, para su metabolismo propio. Esta actividad está representada por los niveles elevados que indican la orina de pacientes. (94) con este síndrome

En Pediatría, merece especial atención una entidad clínica que cursa con diarrea crónica conocida desde hace mucho tiempo con la denominación de "diarrea fermentativa". (110) Weijers y Van de Kamer (201) y Toccalino (189) estudiando su etiología verifican la presencia de ácidos de fermentación en las heces de niños con esta patología. Los hidratos de carbono ingeridos en la dieta cuando no sufren la hidrólisis necesaria para su absorción son atacados por las bacterias transformándose en ácidos de fermentación que por efecto osmótico y tóxico provocan diarrea. Nosotros (188) estudiando la flora intestinal de pacientes con diarrea fermentativa verificamos un sobrecrecimiento bacteriano, tanto de la flora aerobia como anaerobia en el intestino delgado, con concentraciones que variaron de 10^4 - 10^7 gérmenes/ml. Estos pacientes pueden presentar deficiencia secundaria de las disacaridasas, principalmente lactasa y sacarasa y/o una discreta alteración histológica de la mucosa intestinal. Una dieta rica en celulosa provee substrato para la fermentación bacteriana a nivel del intestino delgado, principalmente de la flora anaerobia, a semejanza de lo que ocurre en el rumen de los herbívoros. (18)

ESPRUE TROPICAL Y SINDROME DE ASA CIEGA

El esprue tropical es el mejor ejemplo de síndrome de asa ciega. El cuadro clínico del esprue tropical se caracteriza por pérdida de peso y diarrea, pruebas de absorción alteradas, alteraciones histológicas del intestino delgado, deficiencias de folato y vitamina B₁₂, que en general se corrige con el uso de ácido fólico, vitamina B₁₂ y antibióticos.

Comparando las dos entidades se verifica que los cuadros clínicos se superponen. En el síndrome de asa ciega, las manifestaciones clínicas son debidas a un sobrecrecimiento bacteriano que hasta hace poco tiempo era negado en el esprue tropical. (18)

Estudios bacteriológicos de intestino delgado recientes, realizados en pacientes con esprue tropical mostraron un sobrecrecimiento bacteriano de las microfloras aerobia y anaerobia. (81) Se verificó también que el elevado número de microorganismos presentes en el intestino superior provoca una secreción anormal de fluidos y electrolitos causando diarrea. (15)

Los fenómenos intraluminales que ocurren en el síndrome de asa ciega, también ocurren en el esprue tropical (23, 148, 196) y las alteraciones del epitelio pueden mejorar rápidamente después de iniciada la antibioticoterapia. (123)

Esta enfermedad no es común en la infancia y pocos son los relatos de esprue tropical en Pediatría. Recientemente, Maldonado (147) en Puerto Rico, describió 11 casos de esprue tropical en niños con edades que variaban entre dos y dieciséis años. Verificó que el cuadro clínico y la evolución de estos pacientes son similares a los relatados en adultos.

DIARREA AGUDA

Continúa siendo la patología más común en la infancia. A pesar de su alta incidencia no se han realizado muchas investigaciones sobre la microflora intestinal, durante un episodio de diarrea aguda.

La búsqueda de gérmenes patógenos en el coprocultivo en la mayoría de los casos es negativa, dado que el hallazgo de enteropatógenos oscila entre 20-50 %, aún en las mejores condiciones. (29, 96, 111)

Gorbach, (85) estudió adultos con diarrea aguda, de etiología no determinada, por el método de intubación intestinal. Verificó una colonización de todo el intestino delgado por bacterias de la flora fecal con predominio *E. coli*, que tenía la capacidad de promover secreción de agua y electrolitos hacia la luz intestinal. (86) En apenas un paciente de los 17 estudiados encontró *E. coli* enteropatógeno. Por la ausencia de patógenos denominó a este cuadro diarreico como "diarrea aguda indiferenciada". Los anaerobios en materia fe-

cal estaban en concentraciones disminuidas de 5 a 6 logaritmos, de la misma forma que en diarrea experimental por intensa ingestión de líquido y por alimentación lactea a pacientes alactásicos. (88)

Nosotros (190) estudiando lactantes con diarrea aguda buscamos una comparación entre los hallazgos del sondeo intestinal y el coprocultivo. Verificamos que cuando el coprocultivo es positivo para un germen enteropatógeno éste también se encuentra en el intestino delgado, mientras que, cuando el coprocultivo es negativo encontramos una colonización del intestino superior por bacterias colónicas principalmente *E. coli* y *Aerobacter*. En la mayoría de los casos el coprocultivo fue negativo para enteropatógenos.

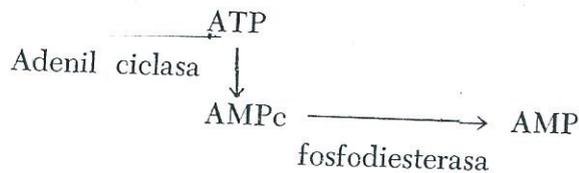
El concepto de que las diarreas agudas son enfermedades producidas por toxinas (129) se confirma. Las bacterias patógenas elaboran una enterotoxina, que es una clase de exotoxina con acción específica sobre el intestino. Actualmente se sabe que *Staphylococcus aureus* (8) *Clostridium perfringens*, (8) *Shigella dysenteriae*, (121) *Pseudomonas*, (81) *E. coli*, (63, 97) *V. cólera* (19, 21) producen una enterotoxina.

La enterotoxina del *E. coli* enteropatógeno tiene dos formas: termolabil y termoestable. (97) La capacidad de producción de enterotoxina es determinada por un plasmideo (una parte de material genético no cromosómico) que puede ser transmitido por una cepa de *E. coli* a otra por conjugación sexual. (174) La transmitibilidad de producción de enterotoxina implica que cualquier cepa de *E. coli* puede aceptar y mantener en replicación un plasmideo de enterotoxina. Si la cepa de *E. coli* posee esta propiedad y también es capaz de colonizar el intestino delgado podrá transformarse en una cepa productora de diarrea. (174) Actualmente se conocen aproximadamente 14 serotipos de *E. coli* enteropatógeno. (56)

Los mecanismos de acción del *V. colérico* y del *E. coli* enteropatógeno fueron bien estudiados. Ambos microorganismos colonizan el intestino superior sin invadir la mucosa durante el episodio de diarrea

aguda. (88, 89) Producen una enterotoxina filtrable que posee acciones similares. Actúan sobre el epitelio intestinal causando secreción de agua y electrolitos hacia la luz intestinal (enterosorción). (3, 156, 181) El efecto de la toxina de *E. coli* es rápido y se mantiene mientras la bacteria esté presente. (158) El efecto de la toxina colérica es más intenso y se mantiene por algún tiempo después de irradiado el microorganismo. (158, 159)

Se comprobó una estrecha relación entre las enterotoxinas, AMP cíclico y secreción de fluido y electrolitos en el intestino del hombre y de animales de experimentación. El AMP cíclico (3-5 Monofosfato de adenosina) es un mediador celular y está presente en todas las células del organismo. Es producido por acción de la enzima adenil ciclasa sobre el trifosfato de adenosina según el esquema



y degradado por la fosfodiesterasa. (118) La estimulación del AMP cíclico produce una disminución de la absorción de sodio, con secreción de sodio, cloro y bicarbonato hacia el lumen intestinal. (58)

Estudios realizados in vivo e invitro con la toxina colérica, mostrarán una alteración idéntica en el movimiento de las secreciones del intestino con aumento de la concentración del AMP cíclico de la mucosa intestinal. (58, 160, 171) Recientemente se verificó que la actividad de la adenil ciclasa estaba significativamente elevada en pacientes con cólera, en comparación con los valores encontrados durante la convalecencia. (24)

Recientemente por estudios de perfusión en pacientes con diarrea aguda por cólera se observó que el movimiento de transporte de sodio está disminuido tanto en el sentido lumen-plasma, como en el sentido plasma-lumen. Como la disminución del flujo lumen-plasma es mayor que el flujo inverso, resulta una secreción neta en el sentido

del lumen intestinal. Las alteraciones más intensas ocurren en el duodeno y yeyuno superior. (139)

Otros patógenos invaden la mucosa intestinal produciendo ulceraciones además de secreción fluida, como acontece con la Salmonella (141) en ileon y con Shigella (161) en el colon. Algunos autores (36, 63) citan que ciertas cepas de E. coli no tóxicas pueden invadir la mucosa colónica y causar enfermedad disentérica, similar a una shigellosis. Toccalino y col. (191) estudió la histología del intestino delgado en niños con diarrea aguda por E. coli enteropatógeno y comprobó una enteropatía de grado leve a moderado en estos pacientes.

En niños con diarrea aguda, cuando el intestino delgado es colonizado por la flora colónica o por gérmenes patógenos se verifica una intolerancia a los hidratos de carbono de la dieta, (132) principalmente a la lactosa y sacarosa. Cuando el sobrecrecimiento bacteriano es muy intenso se puede encontrar intolerancia hasta de los monosacáridos. Lifshitz (133) constató intolerancia a los hidratos de carbono de la dieta utilizando curvas de tolerancia con el hidrato de carbono sospechado, pH fecal ácido y presencia de substancia reductoras en materia fecal. Licastro y Toccalino (130) estudiaron la actividad disacaridasa en niños con diarrea aguda y verificaron una disminución de la actividad de las enzimas estudiadas (lactasa, sacarasa y maltasa), especialmente lactasa, mientras la sacarasa y maltasa mostraron alteraciones más discretas.

Esta intolerancia a los hidratos de carbono secundaria a una diarrea aguda es transitoria y generalmente desaparece en menos de 2 meses. (134)

CONCLUSIONES

Las investigaciones sobre la microflora intestinal y la comprobación de un sobrecrecimiento bacteriano, han sido realizadas casi exclusivamente en pacientes adultos. Creemos, mientras tanto, que un gran número de pacientes pediátricos portadores de diarrea aguda o de diarrea crónica de etiología no aclarada presenta el intes-

tino delgado colonizado por flora fecal o enteropatógenos.

La metodología diagnóstica en diarrea crónica está bastante sistematizada por nosotros (prueba de absorción de d-xilosa, determinación de grasas en materias fecales, test del sudor, biopsia de intestino delgado, determinación de disacaridasas y coprocultivo), aunque no es suficiente para un diagnóstico definitivo en muchos casos. La búsqueda de un sobrecrecimiento bacteriano en el intestino aclaró la etiología del síndrome de asa ciega, así como el síndrome diarreico que acompaña a una serie de entidades clínicas bien definidas.

En la diarrea aguda, el pediatra disponía solamente del coprocultivo, que tiene valor para comprobar la presencia de enteropatógenos en la materia fecal, no así sobre una posible colonización bacteriana en el intestino superior.

El estudio de la microflora entérica por sondeo amplía la metodología diagnóstica en las diarreas puesto que permite evaluar el grado de contaminación bacteriana en un determinado nivel del intestino explicando así los mecanismos fisiopatológicos causados por dicha contaminación.

La técnica del sondeo es simple, barata, no trae ningún tipo de complicaciones y puede ser utilizada por todo pediatra. La determinación de la flora aerobia no requiere técnicas especiales y está al alcance de cualquier laboratorio. El recuento bacteriano puede ser realizado con la misma técnica rutinaria de un urocultivo. El cultivo de la flora anaerobia requiere, todavía, técnicas especiales de anaerobiosis que en breve también serán rutinarias.

Creemos que la búsqueda más a menudo de un sobrecrecimiento bacteriano en pacientes pediátricos con diarrea, podrá aclarar diagnósticos etiológicos hasta entonces oscuros.

BIBLIOGRAFIA

- (1) ANDERSON, C.: Bacterial content of the small intestine of children in health, in coeliac disease and in fibrocystic disease of the pancreas. Brit. Med. J. 1: 803-806, 1958.

- (2) BANWELL, J. G.: Tropical sprue and malnutrition in West Bengal. II - Fluid and electrolyte transport in the small intestine. *Amer. J. Clin. Nutr.* 23: 1559-1568, 1970.
- (3) BANWELL, J. G.: Intestinal Fluid and electrolyte transport in human cholera. *J. Clin. Invest.* 49: 183-195, 1970.
- (4) BAYLES, T. M.: Tropical sprue in Puerto Rico. *Amer. J. Clin. Nutr.* 21: 1030-1041, 1968.
- (5) BENDIG, J.: Die Falkale mikroökologie bei Schul Kinder. *Mitt. Zentr. Bakteril. Parasitenk.* 209: 81-98, 1968.
- (6) BHAT, P.: Bacterial flora of the gastrointestinal tract in Southern Indian control subjects and patients with Tropical Sprue. *Gastroenterology.* 62: 11-21, 1972.
- (7) BILLICH, C.: Effects of sodium concentration and osmolality on water and electrolyte absorption from the intact human colon. *J. Clin. Invest.* 48: 1336-1347, 1969.
- (8) BINDER, H. J. and POWELL, D. W.: Bacterial enterotoxins and diarrhea. *Amer. J. Clin. Nutr.* 23: 1582-1587, 1970.
- (9) BINDER, H. J.: Stimulation of colonic secretion of water and electrolytes by hydroxy fatty acids. *Gastroenterology* 64: 81-88, 1973.
- (10) BOGENDORFER, L.: *Dtsch. Med. Wchr.* 50: 1085, 1924. Citado por Cregan, J. (32).
- (11) BOOTH, C. C.: The effect of *E. coli* on the absorption of vitamin B₁₂. *Gut.* 3: 70-73, 1962.
- (12) BOOTH, C. C.: Comparison of stagnant-loop syndrome with chronic tropical sprue. *Amer. J. Clin. Nutr.* 21: 1097-1109, 1968.
- (13) BORGSTRÖN, B.: Digestion and absorption of fat. *Gastroenterology* 43: 216-219, 1962.
- (14) BRAUN, O. H.: Die Bifiduskeime des Menschen. *Deut. Med. Wochschr.* 89: 1647-1655, 1964.
- (15) BRIGHT-ASARE, P., BINDER, H. J.: Hydroxy fatty acids stimulate colonic secretion of water and electrolytes (abstr. *Gastroenterology* 62: 727, 1972).
- (16) BROWN, W. R.: Intestinal microflora of Immunoglobulin deficient and normal human subjects. *Gastroenterology.* 62: 1143-1152, 1972.
- (17) BROWN, W. R.: Clinical, microbiological and immunological studies in patients with immunoglobulin deficiencies and gastrointestinal disorders. *Gut.* 13: 441-449, 1972.
- (18) BRYANT, M. P.: Normal flora - Lumen bacteria. *Amer. J. Clin.* 23: 1440-1450, 1970.
- (19) BURROWS, W., MUSTEIKIS, G. M.: Cholera infection and toxin in rabbit ileal loop. *J. Infect. Dis.* 116: 183-190, 1966.
- (20) CAMPS, F. E.: Achlorhydria and dysentery. *Guy's Hosp. Rep.* 83: 123-128, 1933.
- (21) CARPENTER, C. C. J.: Cholera Enterotoxin - Recent investigations yield insights into transport processes. *Amer. J. Med.* 50: 1-7, 1971.
- (22) CAREY, M. and SMALL, D.: The characteristics of mixed micellar solutions with particular reference to bile. *Amer. J. Med.* 49: 590-608, 1970.
- (23) CASSELLS, J. S., BANWELL, J. G., GORBACH, S. L.: Tropical sprue and malnutrition in West Bengal. IV - Bile salt de conjugation in tropical sprue. *Amer. J. Clin. Nutr.* 23: 1579-1581, 1970.
- (24) CHEN, C. L., ROHDE, J. E., SHARP, W. G.: Intestinal adenylicase activity in human cholera. *Lancet.* 1: 939-941, 1971.
- (25) COHEN, M.: Fungal flora of the normal human small and large intestine. *New. Engl. J. Med.* 280: 638-641, 1969.
- (26) COHN, I.: The normal microbial flora. *Amer. J. Dig. Dis.* 10: 844-852, 1965.
- (27) COOPERSTEIN, I. L., BROCKMAN, S. K.: The electrical potential difference generated by the large intestine: its relation to electrolyte and water transfer. *J. Clin. Invest.* 38: 435-442, 1959.
- (28) CRABBE, P. A.: The distribution of immunoglobulin containing cells along the human gastrointestinal tract. *Gastroenterology.* 51: 305-316, 1966.
- (29) CRAMBLETT, H. G. and SIEWERS, C. M. F.: The etiology of gastroenteritis in infants and children, with emphasis on the occurrence of simultaneous mixed viral bacterial infections. *Pediatrics.* 35: 885-894, 1965.
- (30) CRANE, R. K. and MILLER, D.: The digestive function of the epithelium of the small intestine. II - Localization of disaccharide hydrolisis in the isolated brush border portion of intestinal epithelial cells. *Biochim. Biophys. Acta.* 52: 293-298, 1963.
- (31) CRANE, R. K.: A perspective of digestive - absorptive function. *Amer. J. Clin. Nutr.* 22: 242-249, 1969.
- (32) CREGAN, J.: The bacterial content of the healthy human small intestine. *Brit Med. J.* 1: 1356-1359, 1953.

- (33) CREGAN, J.: The bacterial content of the human small intestine in disease of the stomach. *Brit. Med. J.* 2: 1248-1251, 1953.
- (34) DAHLQVIST, A. and BORGSTRÖM, B.: Digestion and absorption of disaccharides in man. *Biochem J.* 81: 411-418, 1961.
- (35) DAHLQVIST A., AURICCHIO, S., SEMENZA, G., PRADER, A.: Human intestinal disaccharidases and hereditary disaccharide intolerance. *J. Clin. Invest.* 42: 556-562, 1963.
- (36) DAMMIN, G. J.: Pathogenesis of acute clinical diarrheal disease. *Federation Proc.* 24: 35-37, 1965.
- (37) DAWSON, A. M., ISSELBACHER, K. J.: Studies on lipid metabolism in the small intestine with observation on the role of bile acids. *J. Clin. Invest.* 39: 730-739, 1960.
- (38) DEVROEDE, G. J. and PHILLIPS, S. F.: Conservation of sodium, chloride and water by the human colon. *Gastroenterology* 56: 101-109, 1969.
- (39) DIETSCHY, J. M., SALOMON, H. S., LIPERSTEIN, M. D.: Bile acid metabolism. I - Studies on the mechanisms of transport. *J. Clin. Invest.* 45: 832-866, 1966.
- (40) DIXON, J. M. S.: The fate of bacteria in the small intestine. *J. Path. Bact.* 79: 131-140, 1960.
- (41) DOE, W. F.: The secretory immune system of the intestine. *Gut.* 13: 572-578, 1972.
- (42) DONALDSON, R. M.: Normal bacterial populations of the intestine and their relation to intestinal function. *New Eng. J. Med.* 270: 938-945; 994-1001; 1050-1056, 1964.
- (43) DONALDSON, R. M.: Bacteriological studies in clinical and experimental blind loops syndromes. *Gastroenterology* 52: 1082, 1967.
- (44) DONALDSON, R. M.: Small bowel bacterial overgrowth. *Adv. Intern. Med.* 16: 191-212, 1970.
- (45) DONALDSON, R. M.: Studies of the pathogenesis of steatorrhea in the blind loop syndrome. *J. Clin. Invest.* 44: 1815-1825, 1965.
- (46) DOUBILET, H., FISHMAN, L.: Human biliary - pancreatic secretion. *Amer. J. Gastroenterol.* 35: 499-512, 1961.
- (47) DRASAR, B. S.: Cultivation of anaerobic intestinal bacteria. *J. Path. Bact.* 94: 417-427, 1967.
- (48) DRASAR, B. S.: Studies on the intestinal flora: Part. I - the bacterial flora of the gastrointestinal tract in healthy and achlorhydric persons. *Gastroenterology* 56: 71-79, 1969.
- (49) DRASAR, B. S.: Studies on the intestinal flora: Part. II - Bacterial flora of the small intestine in patients with gastrointestinal disorders. *Gut.* 10: 812-819, 1969.
- (50) DRASAR, B. S.: The deconjugation of the bile salts by human intestinal bacteria. *Lancet.* I: 1237-1238, 1966.
- (51) DRASAR, B. S.: Degradation of bile salts by human small intestinal bacteria. *Gut.* 9: 22-27, 1968.
- (52) DUBOS, R.: Composition, alterations and effects of the intestinal flora. *Fed. Proc.* 22: 1322-1329, 1963.
- (53) DUBOS, R.: The microbiota of the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 51: 868-874, 1966.
- (54) EDMONDS, C. J., GODFREY, R. C.: Measurements of electrical potentials of the human rectum and pelvic colon in normal and aldosterone treated patient. *Gut.* 11: 330-337, 1970.
- (55) EICHHOLZ, A.: Studies on the organization of brush in intestinal epithelial cells. V - Subfractionation of enzymatic activities of the microvillus membrane. *Biochim. Biophys. Acta.* 163: 101-107, 1968.
- (56) EWING, W. H.: Isolation and identification of *Escherichia coli* serotypes associated with diarrheal diseases. Atlanta, United States Department of Healthy Education and Welfare. 1963.
- (57) FELNER, J. M.: *Bacteroides bacteremia.* *Amer. J. Med.* 50: 787-796, 1971.
- (58) FIELD, M.: Effect of cyclic AMP and its role in cholera. *New Eng. J. Med.* 284: 1137-1144, 1971.
- (59) FLOCH, M. H.: Cholic acid inhibition of intestinal bacteria. *Amer. J. Clin. Nut.* 23: 8-10, 1970.
- (60) FORDTRAM, J.: The mechanisms of sodium absorption in the small intestine. *J. Clin. Invest.* 47: 884-900, 1968.
- (61) FORDTRAM, J.: Water and electrolyte movement in the intestine. *Gastroenterology* 50: 263-285, 1966.
- (62) FORDTRAM, J.: Permeability characteristics of the human small intestine. *J. Clin. Invest.* 44: 1935-1944, 1965.
- (63) FORMAL, S. B.: Pathogenesis of *Escherichia coli* diarrhoea. *New Eng. J. Med.* 285: 1-9, 1971.
- (64) FORMAL, S. B., LA BREC, E. H., SCHNEIDER, H.: Pathogenesis of bacillary dysentery in laboratory animals. *Fed. Proc.* 24: 29-34, 1965.
- (65) FORSTNER, G. G., SABESIN, S. M., ISSELBACHER, K. J.: Rat intestinal microvillus membranes. Purification and biochemical characterization. *Biochem. J.* 106: 381-390, 1968.

- (66) FRANKLIN, M. A., SKONYNA, S. C.: Studies on natural gastric flora: I - Bacterial flora of fasting human subjects. *Canad. Med. Ass. J.* 95: 1349-1355, 1966.
- (67) FRETER, R., MONDAL, A.: Coproantibody and serum antibody in cholera patients. *J. Infect. Dis.* 115: 83-87, 1965.
- (68) GALL, L. S.: Normal fecal flora of man. *Amer. J. Clin. Nutr.* 23: 1457-1465, 1970.
- (69) GARROD, L. P.: A study of the bactericidal power of the hydrochloric acid and the Gastric mice. *St. Barth. Hosp. Rep.* 72: 145-167, 1939.
- (70) GERARD, J. P.: Immunoglobulins in human duodenal fluid; local immunological response to ingested bacterial antigen. - In report on 4 th meeting of the European Society of Clinical Investigation pp. 31-32, 1970.
- (71) GIANELLA, R. A.: Gastric acid barrier to ingested microorganism in man. *Gut.* 13: 251-256, 1972.
- (72) GIANELLA, R. A., BROITMAN, S. A., ZAMCHEK, N.: Salmonella enteritis. I - Role of reduced gastric secretion in pathogenesis. *Amer. J. Dig. Dis.* 26: 1000-1006, 1971.
- (73) GIANELLA, R. A., BROITMAN S. A., ZAMCHEK, N.: Salmonella enteritis. II - Fulminant diarrhea in and effects of the small intestine. *Amer. J. Dig. Dis.* 26: 1007-1013, 1971.
- (74) GOLDSTEIN, F.: Bacterial flora of the small intestine. *Gastroenterology* 42: 755-756, 1972.
- (75) GOLDSTEIN, F.: Diverticulosis of the small intestine. *Amer. J. Dig. Dis.* 14: 170-181, 1969.
- (76) GORBACH, S. L.: Studies of intestinal microflora. II - Microorganisms of the small intestine and their relations to oral and fecal flora. *Gastroenterology.* 53: 856-867. 1967.
- (77) GORBACH, S. L.: Studies of intestinal microflora. III - The microbial of human small intestinal mucosa and fluids. *Gastroenterology* 53: 868-873, 1967.
- (78) GORBACH, S. L.: Intestinal microflora. *Gastroenterology* 60: 1110-1129, 1971.
- (79) GORBACH, S. L.: On the intestinal microflora. *Gastroenterology* 57: 231-232, 1969.
- (80) GORBACH, S. L.: Studies of intestinal microflora. I - Effects of diet, age, and periodic sampling on numbers of fecal microorganisms in man. *Gastroenterology* 57: 845-855, 1967.
- (81) GORBACH, S. L.: Tropical sprue and malnutrition in West Bengal. I - Intestinal microflora and absorption. *Amer. J. Clin. Nutr.* 23: 1545-1558, 1970.
- (82) GORBACH, S. L.: Bacterial contamination of the upper small bowel bacteria and tropical sprue. *Lancet.* 1: 74-77, 1969.
- (83) GORBACH, S. L.: Small bowel bacteria Tropical sprue. *Gastroenterology.* 57: 197-199, 1969.
- (84) GORBACH, S. L.: Bacteria, bile and the small bowel. *Gut.* 10: 963-972, 1969.
- (85) GORBACH, S. L.: Acute undifferentiated diarrhea in the tropics. I - Alterations in intestinal microflora. *J. Clin. Invest.* 50: 881-889, 1971.
- (86) GORBACH, S. L.: Acute undifferentiated diarrhea in the tropics. II - Alterations in intestinal fluid and electrolyte movements. *J. Clin. Invest.* 50: 890-900, 1971.
- (87) GORBACH, S. L.: Alterations of intestinal microflora during experimental diarrhea. *Gut.* 11: 1-6, 1970.
- (88) GORBACH, S. L., BANWELL, J. G., JACOBS, B.: Intestinal microflora in Asiatic cholera. II - The small bowel. *J. Infect. Dis.* 121: 38-45, 1970.
- (89) GORBACH, S. L.: Intestinal microflora in Asiatic cholera. III - Studies in Pediatric cholera. *J. Infect. Dis.* 121: 46-47, 1970.
- (90) GRAY, G. M.: Malabsorption of carbohydrate. *Fed. Proced.* 26: 1415-1419, 1967.
- (91) GRAY, G. M., INGELFINGER, F. J.: Intestinal absorption of sucrose in man. *J. Clin. Invest.* 45: 388-398, 1966.
- (92) GRAY, G. M., SANTIAGO, N. A.: Disaccharide absorption in normal and diseased human intestine. *Gastroenterology* 51: 489-498, 1966.
- (93) GRAY, G. M.: Carbohydrate digestion and absorption. *Gastroenterology* 58: 86-107, 1970.
- (94) GREEMBERG, N. J.: Urine indican excretion in malabsorption disorders. *Gastroenterology* 55: 204-211, 1968.
- (95) GRUETTE, F. K.: Ernahrung und bioim Enddarm von Sacuglingen. *Z. Klinisch mikrobiologische vorgeange derheilk* 93: 28-35, 1965.
- (96) GUARDIOLA-ROTGER, A., GONZALEZ, F., KAUDER, E., LOPEZ, V.: Studies on diarrheal diseases. *J. Pediat.* 65: 81-91, 1964.
- (97) GYLES, C. L.: Heat-labile and heat-stable forms of enterotoxin from *E. coli* strains enteropatrogenic for pigs. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 176: 93, 1971.
- (98) HADORN, B.: Intestinal enterokinase. *Lancet.* 1: 165-166, 1971.

- (99) HAENEL, H.: Human normal and abnormal gastrointestinal flora. *Amer. J. Clin. Nutr.* 23: 1440-1450, 1970.
- (100) HAENEL, H.: Von der Wirkung der Frauenmilch nahrung. *Z. Kinderhulk.* 81: 314-318, 1960.
- (101) HAMILTON, J. D.: Assessment and significance of bacterial overgrowth in the small bowel. *Quart. J. Med.* 39: 265-285, 1970.
- (102) HARTLEY, G. S.: Aqueous solutions of paraffin chain salts. Herman Ed. Paris. 1936.
- (103) HERSH, T.: Disturbance of the jejunal and colonic bacterial flora in Immunoglobulin deficiencies. *Amer. J. Clin. Nutr.* 23: 1595-1601, 1970.
- (104) HESS, I.: Hidroxy fatty acids in human diarrhea. *Gastroenterology* 63: 748-757, 1972.
- (105) HODES, H. L., BERGER, R., AINBENDER, E., ZEPP, H. O.: Proof that colostrum polio antibody is different from serum antibody. *J. Pediat.* 65: 1017-1018, 1964.
- (106) HODES, H. L.: Poliomyelites antibodies in human colostrum and milk. *J. Pediat.* 65: 319-320, 1964.
- (107) HOFMAN, A. F.: Clinical implications of physicochemical studies on bile salts. *Gastroenterology* 48: 484-494, 1965.
- (108) HOFMANN, A. F. and MOSBACK, E.: Identification of alloseoxycholic acid as the major component of gallstones induced in rabbit by 5-alfa choleston-3-beta-61. *J. Biol. Chem.* 239: 2813, 1964.
- (109) HOFMANN, A. F., SMALL, D. M.: Detergent properties of bile salts: Correlation with physiological function. *Ann. Rev. Med.* 18: 333-376, 1967.
- (110) HOWLAND, J.: Prolonged intolerance to carbohydrates. *Tras. Amer. Pediat. Soc.* 53: 11-21, 1921.
- (111) HUGH, L., MOFFET, M. D., BURKHOLDER, B. S.: Epidemiology and etiology of severe infantile diarrhea. *J. Pediat.* 72: 1-4, 1968.
- (112) HURST, A. F.: The clinical importance of achlorhydria. *Brit. Med. J.* 2: 665-669, 1934.
- (113) ISSELBACHER, K. J.: Biochemical aspects of lipid malabsorption. *Fed. Proc.* 26: 1420-1425, 1967.
- (114) JEFFRIES, G. H.: Malabsorption. *Gastroenterology* 56: 777-797, 1969.
- (115) JONES, E. A.: Immunoglobulins and the gut. *Gut.* 13: 825-835, 1972.
- (116) KALSER, M. H.: Normal viral and bacterial flora of the human small and large intestine. *New Eng. J. Med.* 274: 500-505, 558-563, 1966.
- (117) KANZLER R.: *Klin Wschr.* 11: 807, 1932. Citado por Cregan J. (32).
- (118) KAPLAN, S.: AMP ciclic. *Amer. J. Dis. Child.* 125: 646-647, 1973.
- (119) KENNY, J. F., BOESMAN, M. I. and MICHAELS, R. H.: Bacterial and viral coproantibodies in breast fed infants. *Pediatrics.* 39: 202-213, 1967.
- (120) KEUSH, C. T., MATA, L. J., GRADE, S. F.: Shigella enterotoxin isolation and characterization. *Clin. Res.* 18: 442-447, 1970.
- (121) KIM, Y. S., SPRITZ, N., BLUM, M., TERZ, J. and SHERLOCK, P.: The role of altered bile acid metabolism in the steatorrhea of experimental blind loop. *J. Clin. Invest.* 45: 956-962, 1966.
- (122) KIM, Y. S., SPRITZ, N.: Metabolism of hydroxy fatty acids in dogs with steatorrhea secondary to experimentally produced intestinal blind loop. *J. Lipid. Res.* 9: 487-491, 1968.
- (123) KLIPSTEIN, F. A., SAMLOFF, I. M., SMARTH, G.: Treatment of overt and subclinical malabsorption in Haiti. *Gut.* 10: 315-322, 1969.
- (124) KNOTT, F. A.: *Guy's Hosp. Rep.* 77: 1, 1927. Citado por Cregan, J. (32).
- (125) KRONE, C. L., THEODOR, E., SLEISSENGER, M. H.: Studies on the pathogenesis of malabsorption: Lipid Hydrolysis and micelle formation in intestinal lumen. *Medicine.* 47: 89-106, 1968.
- (126) KURT, J. I.: The intestinal absorption of carbohydrate and fat. *Gastroenterology* 46: 287-298, 1964.
- (127) LACK, L., WEINER, I. M.: In vitro absorption of bile salts by small intestine of rats and guinea pigs. *Amer. J. Physiol.* 200: 313-317, 1967.
- (128) LARNER, J., MC NICKLE, C. M.: Gastrointestinal digestion of starch. I - The action of 1-6 glucosidase on branched saccharides. *J. Biol. Chem.* 215: 723-736, 1955.
- (129) LAWRENCE, T. E., GORBACH, S. L.: Acute diarrhea a "toxin" disease. *New Eng. J. Med.* 283: 44-45, 1970.
- (130) LICASTRO, R., TOCCALINO, H. y GARCIA CARDO, A.: Actividad disacaridásica en diarreas agudas en la infancia. *Arch. Arg. Enf. Ap. Digest.* 65: 209-212, 1970.
- (131) LICHT, I.: *Zabl. Bakt, Abt. 1 Orig.* 115: 320, 1930. Citado por Cregan, J. (32).
- (132) LIFSHITZ, F.: Enteric microflora and carbohydrate intolerance in infant with diarrhea. *Pediatrics.* 49: 233-242, 1972.

- (133) LIFSHITZ, F., COELLO-RAMIREZ, P., GUTIERREZ TOPETE, G.: Carbohydrate intolerance in infants with diarrhea. *J. Pediat.* 79: 760-767, 1971.
- (134) LIFSHITZ, F.: The response of infants to carbohydrate oral loads after recovery from diarrhea. *J. Pediat.* 79: 612-617, 1971.
- (135) LINDEMANN, B., SOLOMON, A. K.: Permeability of luminal surface of intestinal mucosal cells. *J. Gen. Physiol.* 45: 801-810, 1962.
- (136) LINDENBERG, T.: Intestinal dipeptidases: Characterization, development and distribution of intestinal dipeptidases of human fetus. *Clin. Sc.* 30: 505-515, 1966.
- (137) LOCKWOOD, J. S., RANDALL, G. T.: The place of electrolyte studies in surgical patients. *Bull. New Y. Acad. Med.* 25: 228-235, 1945.
- (138) LODINOVA, R. and WAGNER, V.: Development of faecal immunoglobulins and coproantibodies in infants after artificial oral colonization with *E. coli* 0:83. *Experientia (Basel)* 26: 188, 1970.
- (139) LONE, A. H. G.: Sodium movement across intestinal mucosa in cholera patients. *Lancet*. 2: 151-154, 1972.
- (140) LUBIN, B., BOESMAN, M. I.: A comparison of the γ -globulins of human breast milk and serum. *J. Pediat.* 65: 1103-1104, 1964.
- (141) MAENZA, R. M., POWELL, D. W., PLOTKIN, G. R.: Experimental diarrhea: Salmonella enterocolitis in the rat. *J. Infect. Dis.* 121: 475-485, 1970.
- (142) MALDONADO, N.: Tropical Sprue in children. *J. Pediat.* 76: 470-479, 1970.
- (143) MALLORY, A.: Patterns of bile acids and microflora in the human small intestine. *Gastroenterology* 64: 34-42, 1972.
- (144) MAREN, T. H.: Carbonic anhydrase: chemistry, physiology and inhibition. *Physiol. Rev.* 47: 595-781, 1967.
- (145) METCALF, G. A., ING, T. S.: In vivo dialysis of feces as a method of stool analysis. II - The influence of diet. *Clin. Sci.* 33: 89-100, 1967.
- (146) MICHAEL, J. G., RINGENBACK, R., HOTTENSTEIN, S.: The antimicrobial activity of human colostrum antibody in the newborn. *J. Infect. Dis.* 124: 445-498, 1971.
- (147) MYRBÄCK, K.: Products of the enzymic degradation of starch and glycogen. *Advances Carbohyd. Chem.* 3: 251-310, 1948.
- (148) NAIR, P. P.: Tropical Sprue and malnutrition in West Bengal. III - Biochemical characteristics of bile salts in the small intestine. *Amer. J. Clin. Nutr.* 23: 1569-1578, 1970.
- (149) NELSON, D. P.: Bacterial flora associated with the human gastrointestinal mucosa. *Gastroenterology* 58: 56-61, 1970.
- (150) NORTHRUP, R. S. and HOSSAIN S. A.: Immunoglobulins and antibody activity in the intestine and serum in cholera. *J. Infect. Dis.* 121: Suppl. 142-146, 1970.
- (151) PARKIN, D. M.: The demonstration and function of antibodies in gastrointestinal tract. *Gut*. 13: 483-499, 1972.
- (152) PARKIN, D. M., McCLELLAND, D. B. L., O'MOORE, R. R.: Intestinal bacterial flora and bile salt studies in hypogammaglobulinemia. *Gut*. 13: 182-188, 1972.
- (153) PAULK, M.: Diverticulosis of the small intestine and megaloblastic anemia. *Amer. J. Med.* 37: 473-480, 1964.
- (154) PHILLIPS, S. F.: Diarrhea: A current view of the pathophysiology. *Gastroenterology* 63: 495-518, 1972.
- (155) PHILLIPS, S. F.: Sorption of potassium in the small and in the large intestine. *Amer. J. Physiol.* 211: 607-613, 1966.
- (156) PHILLIPS, S. F.: Water and electrolyte losses in cholera. *Fed. Proc.* 23: 705-712, 1964.
- (157) PRIZONT, R., HERSH, T., FLOCH, M.: Jejunal bacterial flora in chronic small bowel disease. I - Celiac disease. II - Regional enteritis. *Amer. J. Clin. Nutr.* 23: 1602-1607, 1970.
- (158) PIERCE, N. F.: Stimulation of jejunal secretion by a crude *E. coli* enterotoxin. *Gastroenterology* 63: 439-448, 1972.
- (159) PIERCE, N. F., BANWELL, J. G., MITRA, R. C.: A controlled comparison of tetracycline and furazolidone in cholera. *Brit. Med. J.* 3: 277-280, 1968.
- (160) PIERCE, N. F.: Effect of prostaglandins, teophylline, and cholera exotoxin upon transmucosal water and electrolyte movement in the canine jejunum. *Gastroenterology* 60: 22-23, 1971.
- (161) PIMPARKAR, B. D., TULSKY, E. G., KALSER, M. H.: Correlation of radioactive and chemical fecal fat determinations in the malabsorption syndrome. I - Studies in normal man and functional disorders of the gastrointestinal tract. *Amer. J. Med.* 31: 910-926, 1961.
- (162) POLTER, D. E.: Anaerobic bacteria as a cause of the blind loops syndrome: a case report with observations on response to antibacterial agents. *Gastroenterology* 54: 1148-1154, 1968.
- (163) REED, W. P. and WILLIAMS, R. C.: Intestinal immunoglobulins in shigellosis. *Gastroenterology* 61: 35-45, 1971.

- (164) ROSEN, F. S., JANEWAY, E. A.: The gammaglobulins. IV - The antibody deficiency syndromes. *New Eng. J. Med.* 275: 709-715, 1966.
- (165) ROSEMBERG, I. H., HARDISON, W. G. and BULL, D. M.: Abnormal bile salt patterns and bacterial overgrowth associated with malabsorption. *New Eng. J. Med.* 276: 1391-1397, 1967.
- (166) RUBIN, C. E.: Pathogenesis of steatorrhea in three cases of small intestine stasis syndrome. *Gastroenterology* 63: 728-747, 1972.
- (167) RUNE, S. T.: Gastric acid secretion after the ingestion of solid food. *Scand J. Gastroenterol.* 3 (suppl. 1): 11-61, 1968.
- (168) SABIN, A. B. and FIELDSTEEL, A. H.: Antipoliomyelitic activity of human and bovine colostrum and milk. *Pediatrics*. 29: 105-115, 1962.
- (169) SAUNDERS, S. J.: Intestinal absorption of amino acids. *Gastroenterology* 50: 586-595, 1966.
- (170) SAVAGE, R.: Clinical microbiological and immunological studies in patients with immunoglobulin deficiencies and gastrointestinal disorders. *Gut*. 13: 441-449, 1972.
- (171) SCHAFER, D. E., LUST, SIRCAR, B.: Elevated concentration of adenosine 3'-5' cyclic monophosphate in intestinal mucosa after treatment with cholera toxin. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 67: 851-856, 1970.
- (172) SCHULTZ, S. J. and ZALUSKY, R.: Ion transport in isolated rabbit ileum. I. Short circuit current and Na fluxes. *J. Gen. Physiol.* 47: 567-584, 1964.
- (173) SEBASTIANELLI, A.: Sul potere battericida del succo gastrico. *Policlinico, Sez. Prat.* 44: 1593-1602, 1937.
- (174) SMITH, H. W.: The transmissible nature of the genetic factor in *E. coli* that controls enterotoxin production. *J. Gen. Microbiol.* 52: 319, 1968.
- (175) SHIMADA, K., BRICKNELL, K. S., FENEGALD, S. M.: Deconjugation of bile acids by intestinal bacteria: review of the literature and additional studies. *J. Infect. Dis.* 120: 273-281, 1963.
- (176) SHINER, M.: Culture studies of the gastrointestinal tract with a newly devised capsule. *Gastroenterology* 45: 625-632, 1963.
- (177) SHINER, M.: Influence of gastric pH on gastric and jejunal flora. *Gut*. 8: 574-581, 1967.
- (178) SKALA, F., KRONDL, A., VULTERINOVA, M.: Composition of feces in steatorrhea of different etiology: Mutual relationship between volume of feces, water, dry matter, nitrogen and fat content. *Amer. J. Dig. Dis.* 13: 204-212, 1968.
- (179) SMITH, H. W.: The antimicrobial activity of the stomach contents of suckling rabbits. *J. Path. Bact.* 91: 1-9, 1966.
- (180) SOLFFOT, J.: Immunoglobulins containing cells in the small intestine during acute enteritis. *Gut*. 13: 535-538, 1972.
- (181) SOUTH, A. M.: Enteropathogenic *E. coli* disease: New developments and perspectives. *J. Pediat.* 79: 1-11, 1971.
- (182) STWARD, M. W.: Resistance of rabbit secretory IgA to proteolysis. *Biochem Biophys Acta* (in press). Tomado de Giannella R. A. (71).
- (183) THAYSEN, J. H., THORN, M. A., SCHWARTZ, I. L.: Excretion of sodium, potassium, chloride and carbon dioxide in human parotid saliva. *Amer. J. Physiol.* 178: 155-159, 1964.
- (184) THOMAS, P. J.: Identification of some enteric bacteria which convert oleic to hydroxystearic acid in vitro. *Gastroenterology* 62: 430-435, 1972.
- (185) THOMPSON, G. R., TREXLER, P. C.: Gastrointestinal structure and function in germfree or gnotibiotic animals. *Gut*. 12: 230-235, 1971.
- (186) THOMPSON, A. E.: *Med. J. Rec.* 132: 417, 1930.
- (187) TOCCALINO, H., FAGUNDES, U.: Multiple channel tube for intestinal bacteriological samples. *Acta Gastroent. Lat. Amer.* 5: 151-153, 1973.
- (188) TOCCALINO, H., EIGUER, T., CERVETTO, J. L., FAGUNDES, U.: En prensa.
- (189) TOCCALINO, H., SANCHEZ DE LA PUENTE, J., O'DONNELL, J. y TANZI, R.: Las diarreas fermentativas en la infancia. *Arch. Arg. Ped.* 62: 74-89, 1964.
- (190) TOCCALINO, H., FAGUNDES, U.: La flora bacteriana del intestino delgado en las diarreas agudas del niño. En prensa.
- (191) TOCCALINO, H., LICASTRO, R., WILLIAMS, M. y GARCIA CARDO, A.: Histological alterations of the small intestine in normal infants with acute diarrhea. *Acta Gastroenterol. Lat. Amer.* 4: 129-134, 1972.
- (192) TOMASI, T. B., TAN, E. M., SOLOMON, A.: Characteristics of an immune system common to certain external secretions. *J. Exp.* 121: 101-110, 1965.
- (193) TOMASI, T. B., CZERENNINSKI, D.: The secretory IgA system in Goud R. A., Miesher, D. and Smith, R. T., editors: Immunologic deficiency diseases in man. National Foundation Birth Defects Original Articles Series, 1968, p. 270.

- (194) TOMASI, T. B., BIENENSTOCK, J.: Secretory immunoglobulins. *Advances Immunol.* 9: 1, 1968.
- (195) TURNBERG, L. A.: Electrolyte absorption from the colon. *Gut.* 11: 1049-1054, 1970.
- (196) TURNER, R.: Bile salt metabolism in tropical sprue. *Gastroenterology.* 58: 1002, 1970.
- (197) VGOLEV, A. M.: Membrane digestion. *Physiol. Rev.* 45: 555-595, 1965.
- (198) VENABLES, J. F.: *Guy's Hosp. Rep.* 74: 245, 1924.
- (199) WALLEN, J. J., BENEDICT, R. G., JACKSON, R. N.: The microbiological production of 10 hydroxystearic acid from oleic acid. *Ach Biochem Biophys.* 99: 249-253, 1962.
- (200) WATSON, W. C., GORDON, R. S.: Studies on the digestion, absorption and metabolism of castor oil in man. *Biochem Pharmacol.* 11: 229-236, 1962.
- (201) WEIJERS, H. A. and VAN DE KAMER; A etiology and diagnosis of fermentative diarrhoeas. *Acta Paed. Scand* 52: 329-337, 1963.
- (202) WILKINS: Bacteria and bile salts. *Gastroenterology.* 59: 553-566, 1970.
- (203) WILSON, F. A.: Differential diagnostic approach to clinical problems of malabsorption: Normal mechanisms of fat absorption. *Gastroenterology* 61: 911-931, 1971.
- (204) WILSON, W. R.: Anaerobic bacteremia. *Mayo Clin. Proc.* 47: 639-646, 1971.
- (205) WRONG, O. M., METCALF-GIBSON, A.: In vivo dialysis of feces as a method of stool analysis. *Clin. Sci.* 28: 357-375, 1965.