

## EL USO DE PRUEBAS BASADAS EN EL ANALISIS DEL AIRE ESPIRADO, EN ESTUDIOS NUTRICIONALES<sup>1</sup>

*Noel W. Solomons<sup>2</sup>, Roberto E. Schneider<sup>2</sup>,  
Roberto García Ibáñez<sup>2</sup>, Oscar Pineda<sup>2</sup> y Fernando E. Viteri<sup>3</sup>*

**Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP)  
Guatemala, C. A.**

**Con la colaboración de  
*Eduardo Lizarralde<sup>4</sup>, Dale Schoeller<sup>5</sup>, Peter Klein<sup>5</sup>,  
Irwin H. Rosenberg<sup>6</sup> y Doris Calloway<sup>7</sup>***

---

Recibido: 30-9-77.

- 1 Estas investigaciones han sido financiadas parcialmente por los Institutos Nacionales de Salud (NIH) de los Estados Unidos de América, Bethesda, Maryland, y por la Nutrition Foundation, y la Josiah Macy Jr. Foundation, ambas con sede en Nueva York, N. Y.
- 2,3 Científicos y Jefe de la División de Biología y Nutrición Humana del INCAP, respectivamente.
- 4 Jefe del Departamento de Cirugía Pediátrica del Hospital Roosevelt, Ciudad de Guatemala.
- 5 Miembros del Programa Argonne para la aplicación de isótopos estables en medicina, División de Medicina y Biología, Argonne National Laboratory, Argonne, Illinois, E.U.A.
- 6 Científico de la Sección de Gastroenterología, Departamento de Medicina, Pritzker School of Medicine, Universidad de Chicago, Chicago, Illinois.
- 7 Miembro del Departamento de Nutrición de la Universidad de California, Berkeley, California.

Publicación INCAP E-956.

### RESUMEN

Hasta la fecha, las pruebas basadas en el análisis de los componentes gaseosos del aire espirado han sido usadas para estudiar la absorción intestinal y el metabolismo intermediario de distintos nutrimentos. El presente artículo constituye un resumen de estas pruebas, especialmente de aquellas que se basan en la medición de  $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2$  y de  $\text{CO}_2$  marcado isotópicamente como indicador de la absorción intestinal de carbohidratos, grasas y sales biliares, así como de ciertos aspectos del metabolismo intrahepático. Nuevas técnicas, en las que se usa el espectrómetro de masa, permiten la utilización de isótopos estables como el carbono 13 en vez de isótopos radiactivos como el carbono 14, con la consecuente ausencia de radiación. Se comenta en detalle la aplicación de estas pruebas en el campo de la nutrición, haciéndose especial énfasis en la ventaja que representa el hecho de que no son invasivas ni radiactivas. Por lo tanto, su uso en el estudio de niños y mujeres embarazadas, en quienes los métodos de estudio convencionales representan unas veces experiencias psicológicamente traumáticas, y otras, exposición a material radiactivo, ofrece grandes ventajas.

### INTRODUCCION

Las ciencias de la nutrición deben incorporar y aprovechar los nuevos avances que la tecnología moderna les puede ofrecer, a fin de continuar la búsqueda efectiva de soluciones a los problemas nutricionales y alimentarios. Recientemente se ha desarrollado en el campo de la gastroenterología un nuevo conjunto de pruebas basadas en la determinación de distintos gases en el aire espirado, los cuales reflejan ciertos fenómenos metabólicos que ocurren tanto dentro como fuera de la luz intestinal (1, 2). En la actualidad, la tecnología de estas pruebas de aire espirado o de aliento está lo suficientemente desarrollada para permitir su uso en el estudio de problemas nutricionales, y algunas de ellas están siendo ya estudiadas y sometidas a ensayo en el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) y en distintos centros del mundo. Algunos de los resultados obtenidos en el uso y aplicación de estas pruebas fueron dados a conocer en ocasión del IV Congreso Latinoamericano de Nutrición (3).

El propósito del trabajo aquí descrito es presentar a la comunidad científica latinoamericana que investiga los problemas de la nutrición y la alimentación, una breve revisión de la tecnología

involucrada en las pruebas de aliento y discutir sus aplicaciones potenciales en la investigación de dichos problemas.

### PRUEBAS DE ALIENTO

La base de estas pruebas es el análisis del aire espirado, en el que se miden cambios en la concentración de moléculas gaseosas específicas bajo distintas condiciones, los cuales reflejan indirectamente fenómenos metabólicos *in vivo*. Dentro de los gases medidos en muestras de aire espirado se pueden mencionar bióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) marcado isotópicamente y monóxido de carbono (CO), hidrógeno ( $\text{H}_2$ ) y metano ( $\text{CH}_4$ ) producidos endógenamente a partir de substratos naturales.

### VENTAJAS DEL PROCEDIMIENTO

El uso de estas pruebas en investigaciones en seres humanos ofrece un sinnúmero de ventajas. En primer lugar, la obtención de muestras de aire espirado es fácil, inocua, segura y emplea técnicas no invasivas. En nuestra experiencia, la colección de aliento es bien tolerada por niños pequeños y aceptada por los padres sin ningún problema. En la investigación de fenómenos fisiológicos y gastrointestinales, estas pruebas tienen un carácter menos invasivo que otras convencionales que requieren la intubación intestinal o la obtención de muestras de sangre. Además, las mismas generalmente requieren menos tiempo que otras en las que se necesita coleccionar cuantitativamente orina y heces. Todas estas características hacen, pues, de estas pruebas, instrumentos ideales para estudios de campo.

En general, las muestras gaseosas son más fáciles de guardar y transportar que las de sangre, heces u orina. Las muestras de aliento se pueden conservar por períodos largos en tubos de ensayo con tapón de hule corriente, jeringas de vidrio engrasadas y bolsas hechas de un material plástico con aluminio (Mylar), sin que haya cambios significativos en la concentración de los gases presentes en la muestra. En ciertos casos, como sucede con la medición de hidrógeno, el método analítico que emplea cromatografía de gas es relativamente barato, simple, y puede usarse aun a nivel de campo.

Varios son los substratos usados hasta la fecha para estas

pruebas. Así, en individuos adultos se han utilizado compuestos radiactivos marcados con  $^{14}\text{C}$  en dosis de 5 a 10  $\mu\text{Ci}$ . El  $^{14}\text{CO}_2$  producido en el metabolismo de dichos substratos puede ser atrapado y medido usando un contador de centelleo líquido. Sin embargo, como se comenta más adelante, nuestra experiencia con el uso de un isótopo estable, tal como el  $^{13}\text{C}$ , en vez del isótopo radiactivo  $^{14}\text{C}$ , así como las de otros investigadores, sugieren que el primero debe sustituir al segundo cuando estas pruebas se efectúan en infantes, niños pequeños, mujeres embarazadas y mujeres en la edad fértil. Como es sabido, en estos grupos de población es preferible evitar el uso hasta de las pequeñas dosis de sustancias radiactivas que requieren estas pruebas.

Originalmente, la mayoría de ellas usaban sistemas cerrados en los que las muestras de aire espirado se colectaban o analizaban en forma continua. Posteriormente se descubrió que en lugar de este sistema tan complicado se podría usar un método más sencillo, consistente en obtener muestras de aliento a intervalos periódicos después de la administración de un substrato de prueba; las concentraciones de las moléculas gaseosas en las distintas muestras podrían integrarse posteriormente para obtener el área bajo la curva a lo largo del tiempo, y así una aproximación de la cantidad total espirada del metabolito, tomando en cuenta la ventilación total durante el período de colección. El método de colección de muestras a intervalos periódicos se ha utilizado para determinar la mayoría de los gases presentes en el aire espirado y ha simplificado el uso de estas pruebas en investigaciones de campo, ampliando su aplicación al estudio de niños pequeños.

#### PRUEBAS BASADAS EN LA MEDICION DEL $\text{CO}_2$ ESPIRADO

En años recientes se ha logrado sintetizar ciertos compuestos orgánicos o nutrimentos que contienen un grupo funcional marcado con carbono isotópico  $^{13}\text{C}$  ó  $^{14}\text{C}$  en una posición precisa por medio de una unión sobre la que actúa una enzima específica (unión blanco o *target bond*). El metabolismo de dicho compuesto, ya sea por enzimas celulares o bacterianas, da origen a un pequeño grupo funcional que contiene el carbono marcado, el cual es oxidado posteriormente en forma final a  $\text{CO}_2$  ( $^{14}\text{CO}_2$  ó  $^{13}\text{CO}_2$ ) que aparece en el aliento. Su nivel de excreción a lo largo del tiempo puede ser usado como índice de la velocidad y propor-

ción en que esta sustancia se ha metabolizado, así como su destino final.

A la fecha existe una serie de informes sobre diversas pruebas basadas en la determinación de  $^{14}\text{CO}_2$  en el aliento. Se han llevado a cabo varios ensayos para evaluar la absorción de grasas utilizando distintos tipos de moléculas de lípidos marcadas con  $^{14}\text{C}$ , que incluyen el triglicérido (acilglicerol) de cadena media trioctanoína (trioctilglicerol) (4) así como el triglicérido de cadena larga tripalmitina (tripalmitilglicerol) (5). También se han investigado estados de intolerancia a la lactosa empleando lactosa marcada con  $^{14}\text{C}$  (6, 7) y la velocidad de producción de  $^{14}\text{CO}_2$  a partir de una dosis de  $^{14}\text{C}$ -galactosa, con el propósito de determinar la función hepática (8).

Una de las sales biliares, específicamente el glicocolato marcado con  $^{14}\text{C}$ , ha sido usado extensamente para detectar la presencia de proliferación bacteriana en segmentos superiores del tubo gastrointestinal, así como en condiciones en las que la reabsorción de las sales biliares a nivel del íleon terminal está alterada (9-13). También se ha empleado la disminución de la oxidación del carbono beta del aminoácido serina marcado con  $^{14}\text{C}$ , como un índice clínico de estados de deficiencia de folatos en el ser humano (14).

Estudios de investigación efectuados a través del Programa Argonne sobre el uso de isótopos estables en medicina, han permitido desarrollar técnicas para medir la cantidad de  $\text{CO}_2$  presente en el aire espirado usando distintos substratos marcados con el isótopo estable  $^{13}\text{C}$  del carbono. El  $^{13}\text{CO}_2$  puede separarse del  $^{12}\text{CO}_2$  por su diferencia en masa molecular valiéndose de un espectrómetro de masa de doble haz (15). La tecnología requerida es muy elaborada y cara, pero las muestras de aire espirado que contienen  $^{13}\text{CO}_2$  pueden atraparse y almacenarse usando soluciones 2N de NaOH, o simplemente guardarse en tubos de ensayo con tapones de hule. Aplicando esta tecnología se ha logrado desarrollar una prueba muy sensible para medir la actividad de la lipasa pancreática en niños con enfermedad fibroquística, y que consiste en administrar trioctanoína (trioctanoilglicerol) y ácido octanoico marcados con  $^{13}\text{C}$  y obtener muestras de aliento (16). También está ampliamente documentada una prueba para detectar la presencia de deconjugación de sales biliares a nivel del intestino administrando una dosis oral de glicocolato marcado con  $^{13}\text{C}$ , la cual compara favorablemente con otra que emplea el mismo substrato marcado con  $^{14}\text{C}$  (17). En ambas se asume que la producción

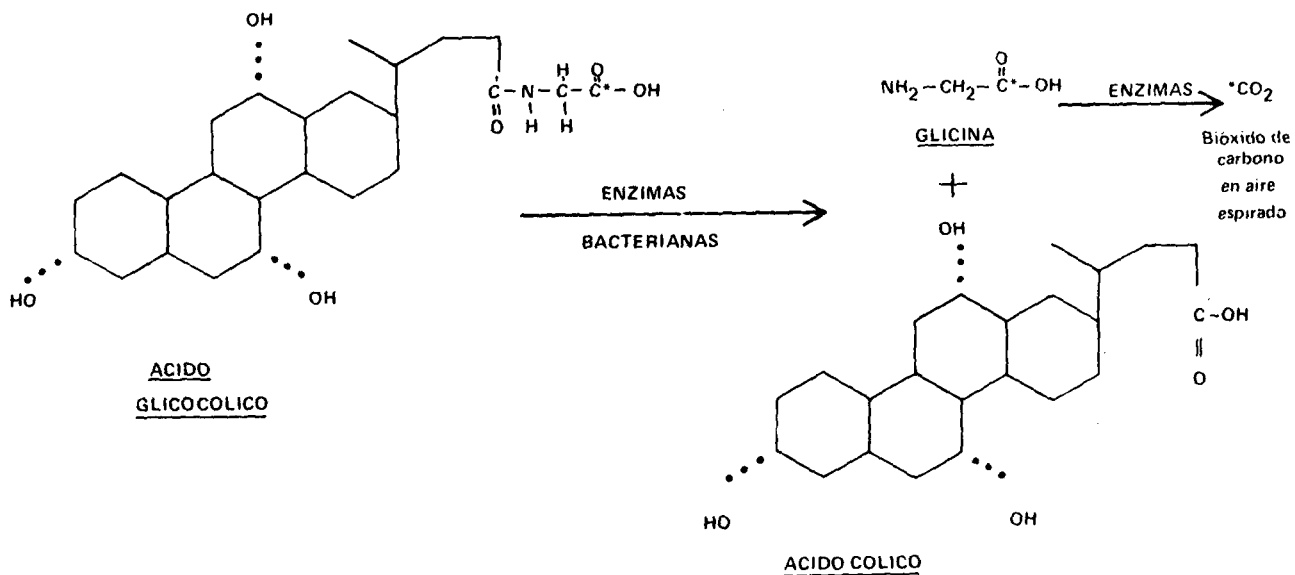
endógena de  $\text{CO}_2$  es alrededor de  $9 \mu\text{g moles/kg/hora}$  (18). La dosis de la sal biliar marcada se administra después de tomar una o dos muestras basales de aire espirado; luego se obtienen muestras de aliento durante dos minutos cada hora por un período de 6 horas. Al entrar el glicocolato en contacto con las bacterias del intestino, ya sea en el colon o en el intestino delgado, es deconjugado siguiendo la secuencia que se muestra en la Figura 1. Un aumento de concentración de  $^{13}\text{CO}_2$  en el aliento es indicador de que el substrato ha sufrido una deconjugación intestinal mayor de lo normal.

Los autores del presente trabajo han utilizado la prueba de deconjugación de  $^{13}\text{C}$  glicocolato arriba descrita para evaluar la capacidad de absorción de sales biliares en niños a quienes se les había efectuado una anastomosis ileocólica temporal por haber sufrido perforaciones tifóidicas a nivel del íleon terminal. La longitud del íleon terminal excluido varió entre 10 y 100 cm. Se han estudiado cinco de estos niños, buscando un posible aumento en la deconjugación de sales biliares como consecuencia de la exclusión del sitio de absorción de estas sales biliares conjugadas. La Figura 2 muestra uno de estos sujetos que presentaba un aumento en la deconjugación de  $^{13}\text{C}$  glicocolato.

Las pruebas diseñadas para medir la absorción de ácidos grasos de cadena larga y de sus acilglicérols que se basan en la eliminación de  $^{13}\text{CO}_2$  a partir de la administración oral de dichos compuestos marcados con  $^{13}\text{C}$ , están aún en su fase experimental. Estas vendrían a complementar las pruebas de aliento que requieren el uso de sales biliares como substratos en el estudio de la absorción de grasas y de nutrición energética.

#### PRUEBAS DE ALIENTO PARA MEDIR LA DIGESTION DE CARBOHIDRATOS

Ciertas bacterias de la flora gastrointestinal tienen la capacidad de metabolizar carbohidratos, generando hidrógeno en la luz del tubo digestivo (19-21). El hidrógeno producido es excretado en cierta proporción a través del aire espirado; por lo tanto, un aumento de la cantidad de hidrógeno en el aliento después de la administración por vía bucal, de un carbohidrato, indica que este último no ha sido absorbido en forma apropiada. La concentración de hidrógeno puede medirse en el aire espirado usando un cromatógrafo de gas. Originalmente este descubrimiento se



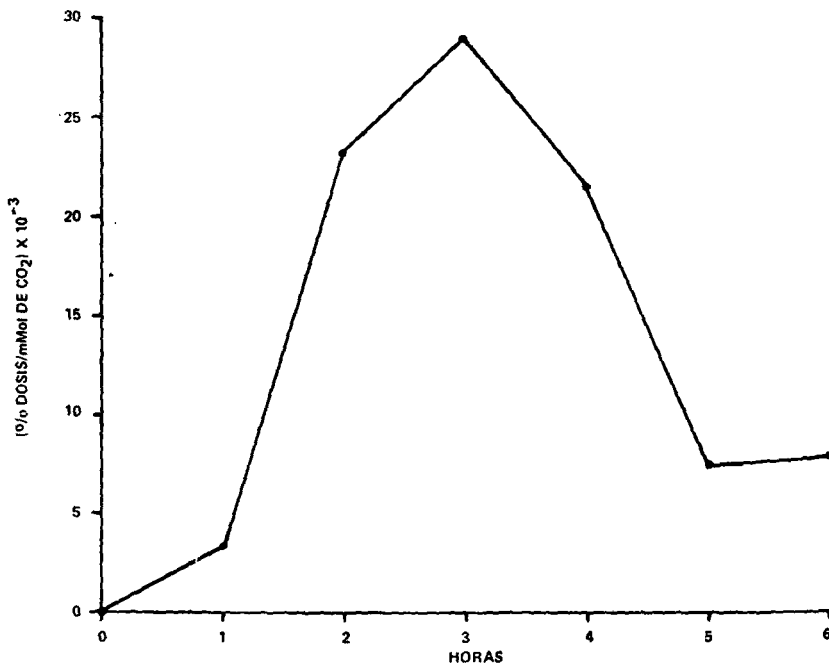
Incap 76-1155

FIGURA 1

Deconjugación bacteriana de ácido glicocólico marcado con un isótopo de carbono en la molécula de glicina. Se aprecia, asimismo, la evolución del CO<sub>2</sub> marcado isotópicamente.

utilizó para evaluar el comportamiento de los distintos carbohidratos presentes en diversos alimentos de la dieta (22-26). Más adelante se aplicó en pruebas clínicas para determinar intolerancia a la lactosa (6, 7, 27-30), así como intolerancia a la sucrosa (31); también se ha utilizado para detectar proliferación anormal de la flora gastrointestinal (32). Hoy día, gracias al desarrollo y la simplicidad del sistema de muestreo periódico, esta prueba es de fácil aplicación y muy bien tolerada aun por niños pequeños (33).

La eliminación de  $H_2$  en el aliento está siendo aplicada ahora por el INCAP al estudio de distintos problemas nutricionales.



INCAP 77-679

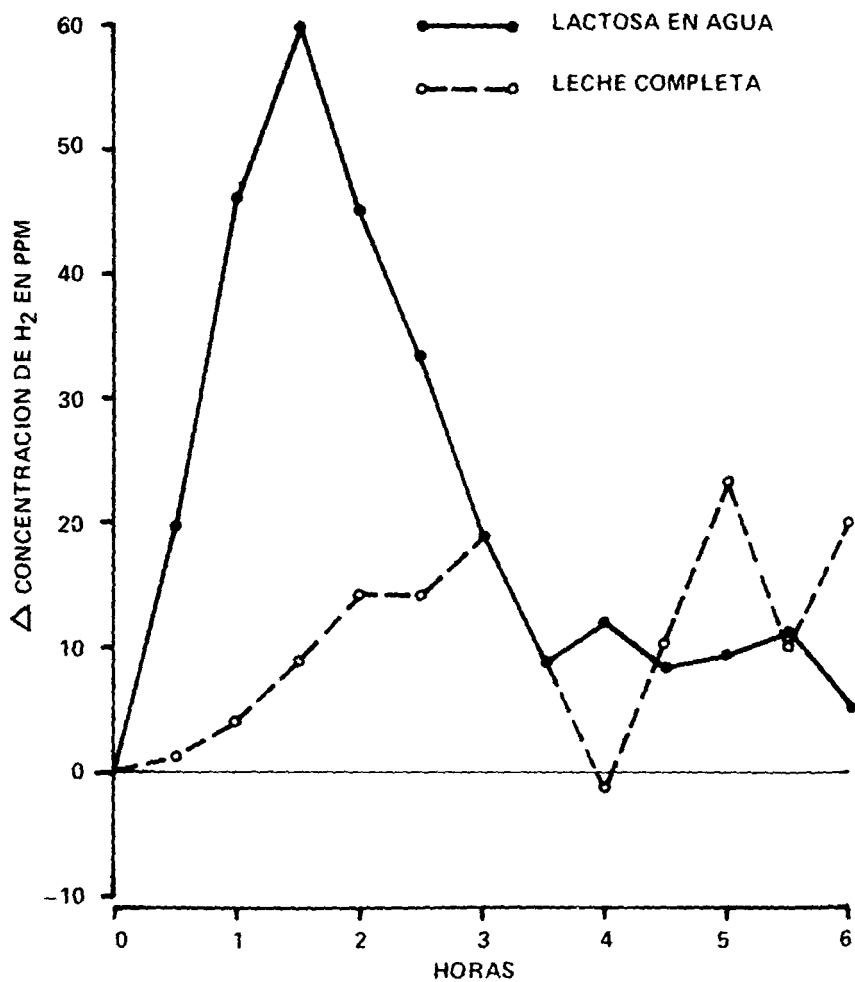
FIGURA 2

Evolución de  $^{13}CO_2$  después de la ingestión de 100 mg de ácido glicocólico ( $^{13}C-$ ) en un niño de 7 años con una derivación de 100 cm en el íleon terminal. La prueba indica que en el colon existe una cantidad significativa de deconjugación bacteriana de sales biliares.

Hasta la fecha se han empleado dos sistemas de análisis por cromatografía de gas: a) usando un cromatógrafo modificado especialmente con un detector de ionización de helio (Varian Aerograph) y, b) utilizando un cromatógrafo modelo S Quintron especialmente adaptado para el empleo de detección por conductividad térmica para determinar hidrógeno. El primer método es extremadamente sensible, pero el equipo es caro y complicado; el segundo método es menos sensible y menos reproducible pero el equipo es muy barato, compacto, simple, fácil de operar y de suficiente exactitud y sensibilidad para efectuar pruebas clínicas.

Nuestra experiencia, así como la de otros investigadores, ha mostrado que la producción basal endógena de hidrógeno en el período de ayuno es extraordinariamente estable en el ser humano. Además, en el niño la falta de absorción de cantidades tan pequeñas como 1.5 g de un carbohidrato no absorbible tal como la lactulosa, produce cantidades fácilmente detectables en la concentración de hidrógeno en el aire espirado al ser éste metabolizado por las bacterias intestinales. Empleando la detección de hidrógeno en el aliento en muestras periódicas (cada 30 minutos por 6 horas) hemos podido comprobar que más de 50% de niños con desnutrición proteínico-energética de tipo edematoso a quienes se administró una dosis de 1.75 g de lactosa por kg de peso en solución acuosa, presentó un alza significativa en la concentración de hidrógeno. Otro hallazgo importante en esta área de investigación es que dicha anomalía no desapareció con la recuperación nutricional, lo que sugiere que la intolerancia a altas dosis de lactosa se debe a una causa no nutricional (genética) presente antes de que se desarrolle desnutrición grave, o bien a que dicho defecto no se logra corregir aún varios meses después de que el niño alcanza repleción nutricional.

De interés fue notar, además, que al administrar la lactosa en dosis equivalentes pero en forma de leche de vaca enriquecida con lactosa en polvo, la concentración y la cantidad total de hidrógeno excretado en el período de 6 horas se redujo significativamente. La Figura 3 muestra gráficamente los resultados de estas dos pruebas en un niño de edad preescolar con intolerancia a la lactosa, y muestra también cómo la excreción de hidrógeno se hizo más lenta y menor al administrarle la lactosa con leche que cuando se le dio en solución acuosa. Es probable que la explicación de este fenómeno radique en el hecho de que al administrarse la lactosa con leche se produce un vaciamiento gástrico más lento, esto permite un contacto más prolongado de la lactosa con



INCAP 77-680

FIGURA 3

Cambios en la concentración de hidrógeno en el aire espirado, en un niño con intolerancia a la lactosa después de tomar 1.75 g de esta última por kg de peso ●—● en solución acuosa, y en leche entera ○- - -○. Tanto la magnitud como la velocidad de la excreción de hidrógeno se encuentran reducidas cuando la lactosa proviene de leche.

la célula intestinal y, por consiguiente, con las enzimas digestivas, especialmente lactasa, lo que favorece una mejor digestión de este disacárido.

La aplicación de estas pruebas al estudio de niños pequeños ha puesto de manifiesto una serie de problemas metodológicos. Se ha observado así, por ejemplo, que un vaciamiento gástrico excesivamente lento (mayor de 6 horas) puede inducir una interpretación falsa de la prueba, ya que el substrato no llega al intestino en este período. También se ha observado que durante el sueño prolongado hay un alza en la concentración de hidrógeno espirado en respuesta a la administración de una dosis de carbohidrato no absorbible, en relación a lo que ocurre cuando el niño está despierto (34). La administración de antibióticos previo a la prueba puede eliminar la flora intestinal necesaria para producir hidrógeno durante la fermentación de los carbohidratos. Estudios notificados por otros autores sugieren, sin embargo, que ciertos antibióticos aparentemente favorecen el crecimiento de una flora productora de hidrógeno, con el resultante aumento de la excreción de hidrógeno después de la administración de un carbohidrato (35).

Las pruebas de hidrógeno en aliento por el método de muestreo periódico se han aplicado también al estudio nutricional del adulto. En informes previos se ha mostrado que la excreción urinaria de D-xilosa durante un período de 5 horas es un buen indicador de la morbilidad intestinal resultante de episodios diarreicos a repetición y condiciones muy pobres de saneamiento ambiental (36). El hecho de que aun bajo condiciones óptimas la D-xilosa se absorba únicamente en un 62%, permite que parte de la misma pueda ser fermentada por bacterias intestinales y produzca un aumento en la eliminación de hidrógeno por el aliento. Esta situación fue utilizada para complementar la prueba convencional de D-xilosa (determinación de D-xilosa eliminada por la orina en 5 horas) con la medición periódica del hidrógeno presente en el aliento.

Por medio de esta prueba también se ha estudiado el grado de eficiencia con que el aparato gastrointestinal de dos poblaciones adultas que viven en condiciones de saneamiento muy diferentes (adultos sanos de Norteamérica y adultos sanos del área rural de Guatemala) utiliza dos dietas distintas, bien definidas. La primera en forma líquida y con un coeficiente de digestibilidad muy alto contenía harina de huevo, monosacáridos, aceite vegetal, minerales y vitaminas, estando exenta de fibra. La segunda, con un alto

contenido de fibra, estaba formada principalmente por maíz y frijol así como por otros alimentos de consumo corriente en el área rural de Guatemala.

Los resultados preliminares obtenidos sugieren que el aparato digestivo de los integrantes de cada grupo estudiado reaccionó de manera distinta a las dos dietas administradas. Aún más, el volumen y el patrón de excreción de los gases intestinales fue también diferente (Figura 4).

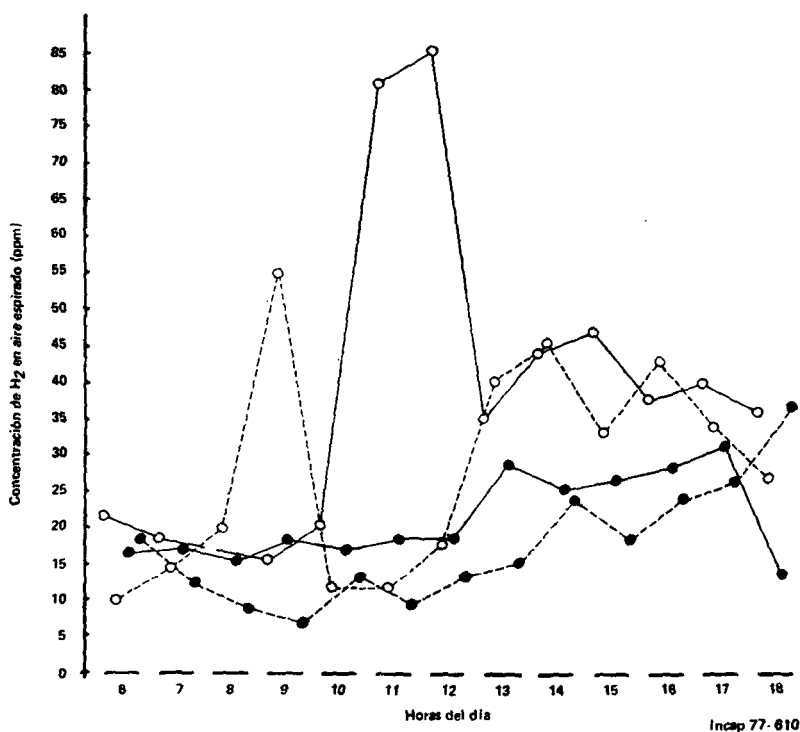


FIGURA 4

Efecto producido por la ingesta de una dieta con bajo contenido (●—●) y otra con alto contenido (○-○) de fibra en la eliminación diaria del hidrógeno presente en el aire espirado de sujetos adultos del área rural de Guatemala.

## CONCLUSIONES

Existe una interacción muy importante entre el estado nutricional y la función gastrointestinal. La desnutrición proteínico-energética en niños se asocia con alteraciones en las funciones digestiva y de absorción, relación que ya ha sido objeto de extensas revisiones (37-41). Por otro lado, existe evidencia de que la malabsorción subclínica de nutrientes es un problema prevalente en las poblaciones de condición socioeconómica pobre de países en vías de desarrollo, lo que disminuye la utilización de los nutrientes ingeridos (42). Estudios previos han demostrado también que frecuentemente las infecciones parasitarias, bacterianas y virales del intestino se asocian con grados variables de malabsorción (43). La aplicación de pruebas no invasivas, como las basadas en el análisis del aliento para estudiar el impacto de diversos grados de malabsorción sobre el estado nutricional del ser humano, tiene un gran potencial.

La incorporación de los adelantos tecnológicos que permiten el uso de isótopos estables en las pruebas basadas en la detección de  $\text{CO}_2$  en el aire espirado, amplía la posibilidad de usar dichas pruebas en grupos de población en los que el uso de isótopos radiactivos constituye un riesgo o cuando el uso de radioisótopos no es aceptado por condiciones culturales. A la fecha, la prueba que permitirá evaluar la absorción de grasa usando substratos marcados con  $^{13}\text{C}$  está en su fase experimental, y se espera que en un futuro próximo pueda ser aplicada a estudios nutricionales. El uso de taurocolato marcado con  $^{13}\text{C}$  como substrato para la prueba de degradación de sales biliares, la medición de  $^{13}\text{CO}_2$  en el aire espirado a partir de  $^{13}\text{C}$  taurina como medida de la absorción de aminoácidos, y el desarrollo de una prueba de aliento a partir de  $^{13}\text{C}$  serina para evaluar el estado funcional de nutrición de folatos, prometen ser pruebas útiles en estudios nutricionales hasta ahora no factibles.

Las pruebas basadas en el análisis de aliento agilizarán las investigaciones nutricionales, especialmente a nivel de campo. En general, el hecho de que dichas pruebas sean simples, seguras e indoloras, y que el procedimiento de colección de muestras sea de índole no invasiva, las hace aceptables en cualquier cultura. Además, las muestras de aliento son fáciles de transportar, almacenar y procesar, factores que amplían aún más su aplicación.

Esperamos que esta revisión del aspecto tecnológico de las pruebas basadas en el análisis de aliento, así como el intercambio

de la experiencia acumulada en el INCAP con la comunidad latina de nutricionistas, promueva y estimule la aplicación de estas pruebas en el estudio de los problemas nutricionales que aquejan a nuestras poblaciones.

#### SUMMARY

##### THE USE OF TESTS BASED ON BREATH ANALYSIS FOR NUTRITIONAL STUDIES

Tests based on the analysis of the gaseous components of expired air have been developed to study intestinal absorption and intermediary metabolism of various nutrients. This paper reviews the breath-analysis tests based on the measurement of CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>, and isotopically-labelled CO<sub>2</sub> for studying the intestinal absorption of carbohydrates, fats, and bile salts, and intrahepatic metabolism. New technology employing mass spectrometry allows the use of the stable isotope, carbon-13, instead of the radioactive isotope, carbon-14, for CO<sub>2</sub> breath tests. The nutritional application of the breath-analysis tests is discussed, and the advantages of the non-radioactive, non-invasive procedures, especially for use in children and pregnant women in whom standard investigational methods represent a discomfort or a radioactive hazard, are emphasized.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Hepner, G. W. Breath analysis: gastroenterological applications. *Gastroenterology*, 67:1250, 1974.
2. Newman, A. Breath-analysis test in gastroenterology. *Gut*, 15:308, 1974.
3. Solomons, N. W., F. E. Viteri, D. A. Schoeller, P. D. Klein & I. H. Rosenberg. Desarrollo y aplicación de análisis de aire espirado para estudios de malabsorción y fisiología intestinal en niños. Presentado en: **IV Congreso Latinoamericano de Nutrición, Caracas, Venezuela, noviembre de 1976.**
4. Schwabe, A. D., F. J. Cozzetto, L. R. Bennett & S. M. Mellinkoff. Estimation of fat absorption by monitoring of expired radioactive carbon dioxide after feeding a radioactive fat. *Gastroenterology*, 42: 285, 1962.
5. Kaihara, S. & H. N. Wagner. Measurements of intestinal fat absorption with carbon 14 labeled tracers. *J. Lab. Clin. Med.*, 71:400, 1968.
6. Newcomer, A. D., D. B. McGill, P. J. Thomas & A. F. Hofmann. Prospective comparison of indirect methods for detecting lactase deficiency. *New Engl. J. Med.*, 293:1332, 1975.

7. Bond, J. H. & M. D. Levitt. Quantitative measurement of lactose absorption. *Gastroenterology*, **70**:1058, 1976.
8. Shreeve, W. W., J. D. Shoop, D. Ott & B. B. McInteer. Test for alcoholic cirrhosis by conversion of  $^{14}\text{C}$  or  $^{13}\text{C}$  galactose to expired  $\text{CO}_2$ . *Gastroenterology*, **71**:98, 1976.
9. Sherr, H. P., Y. Sasaki, A. Newman, J. G. Banwell, H. N. Wagner & T. R. Hendrix. Detection of bacterial deconjugation of bile salts by a convenient breath-analysis technic. *New Engl. J. Med.*, **285**:656, 1971.
10. Fromm, H. & A. F. Hofmann. Breath test for altered bile acid metabolism. *Lancet*, **2**:621, 1971.
11. Pedersen, L., T. Arnfred & E. Hess Thaysen. Rapid screening of increased bile acid deconjugation and bile acid malabsorption by means of the glycine-1-( $^{14}\text{C}$ ) cholyglycine assay. *Scand. J. Gastroenterol.*, **8**:665, 1973.
12. James, O. F. W., J. E. Agnew & I. A. D. Bouchier. Assessment of the  $^{14}\text{C}$ -glycocholic acid breath test. *Brit. Med. J.*, **3**:191, 1973.
13. Parking, D. M., D. J. Cossons, P. Rooney, R. R. O'Moore, R. R. G. Warwick, I. W. Percy-Robb & D. J. C. Shearman. Evaluation of the "breath test" in the detection of bacterial colonization of the upper intestinal tract. *Lancet*, **2**:777, 1972.
14. DeGrazia, J. A., M. B. Fish & M. Pollycove. The oxidation of the beta carbon of serine of human folate and vitamin  $\text{B}_{12}$  deficiency. *J. Lab. Clin. Med.*, **80**:395, 1972.
15. Schoeller, D. A., J. F. Schneider, N. W. Solomons, J. Watkins & P. D. Klein. Clinical diagnosis using the stable isotope  $^{13}\text{C}$  in  $\text{CO}_2$  breath test: methodology and fundamental considerations. *J. Lab. Clin. Med.*, **90**:412, 1977.
16. Watkins, J. B., D. Schoeller, P. D. Klein, D. G. Ott, A. D. Newcomer & A. F. Hofmann.  $^{13}\text{C}$  trioctanoin. A non-radioactive breath test to detect fat malabsorption. *J. Lab. Clin. Med.*, **90**:422, 1977.
17. Solomons, N. W., D. A. Schoeller, J. B. Wagonfeld, D. Ott, I. H. Rosenberg & P. D. Klein. Application of a stable isotope (carbon 13) labelled glycocholate breath test to diagnosis of bacterial overgrowth and ileal dysfunction. *J. Lab. Clin. Med.*, **90**:431, 1977.
18. Winchell, H. S., H. Stahelm & N. Kususbov. Kinetics of  $\text{CO}_2\text{-HCO}_3$  in normal adult males. *J. Nuclear Med.*, **11**:711, 1970.
19. Calloway, D. H., R. D. Mathews & D. J. Calasito. Gases produced by human intestinal flora. *Nature*, **212**:1238, 1966.
20. Calloway, D. H. & E. L. Murphy. The use of expired air to measure intestinal gas formation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **150**:82, 1968.
21. Levitt, M. D. Production and excretion of hydrogen gas in man. *New Engl. J. Med.*, **28**:122, 1969.
22. Calloway, D. H. Respiratory hydrogen and methane as affected by consumption of gas-forming foods. *Gastroenterology*, **51**:383, 1966.
23. Burroughs, S. E. & D. H. Calloway. Gastrointestinal response to diet

- containing pineapple. *J. Am. Dietet. Assoc.*, **53**:336, 1968.
24. Calloway, D. H., C. A. Hickey & E. L. Murphy. Reduction of intestinal gas-forming properties of legumes by traditional and experimental food processing methods. *J. Food Sci.*, **36**:251, 1971.
  25. Hickey, C. A. & D. H. Calloway. Intestinal gas production following ingestion of commercial wheat cereals and milling fraction. *Cereal Chem.*, **49**:276, 1972.
  26. Hickey, C. A., D. H. Calloway & E. L. Murphy. Intestinal gas production following ingestion of fruits and fruit juices. *Am. J. Dig. Dis.*, **17**:383, 1972.
  27. Calloway, D. H., E. L. Murphy & D. Bauer. Determination of lactose intolerance by breath analysis. *Am. J. Dig. Dis.*, **14**:811, 1969.
  28. Levitt, M. D. & R. M. Donaldson. Use of respiratory hydrogen (H<sub>2</sub>) excretion to detect carbohydrate malabsorption. *J. Lab. Clin. Med.*, **75**:937, 1970.
  29. Metz, G., D. J. A. Jenkins, T. J. Peter, A. Newman & L. M. Blendis. Breath hydrogen as a diagnostic method for hypolactasia. *Lancet*, **1**:1155, 1976.
  30. Geanhart, H. L., D. P. Bose, C. A. Smith, R. D. Morrison, J. D. Welsh & T. K. Smalley. Determination of lactose malabsorption by breath analysis with gas chromatography. *Anal. Chem.*, **48**:393, 1976.
  31. Metz, G., D.J.A. Jenkins, A. Newman & L.M. Blendis. Breath hydrogen in hyposucrasia. *Lancet*, **1**:119, 1976.
  32. Metz, G., B. S. Drasar, M. A. Gassull, D. J. A. Jenkins & L. M. Blendis. Breath hydrogen test for small intestinal bacterial colonization. *Lancet*, **1**:668, 1976.
  33. Solomons, N. W., F. E. Viteri & I. H. Rosenberg. Development of an interval sampling hydrogen (H<sub>2</sub>) breath test for carbohydrate malabsorption in children. Evidence for a circadian pattern of H<sub>2</sub> concentration. *Pediat. Res.* En prensa.
  34. Solomons, N. W. & F. E. Viteri. Breath hydrogen during sleep. (Letter to the Editor). *Lancet*, **2**:636, 1976.
  35. Murphy, E. L. & D. H. Calloway. The effect of antibiotic drugs on the volume and composition of intestinal gas from beans. *Am. J. Dig. Dis.*, **17**:639, 1972.
  36. Schneider, R. E., C. E. Anderson & M. A. Shiffman. Prevalence of D-xilose malabsorption in rural communities in Guatemala. Presentado en: **V Congreso Internacional de Gastroenterología, México, D. F., octubre de 1974.**
  37. Schneider, R. E., C. Contreras & F. E. Viteri. Studies on the luminal events of lipid absorption in protein-calorie malnourished (PCM) children; its relation with nutritional recovery and diarrhea. I. Capacity of the duodenum content to achieve micellar solubilization of lipids. *Am. J. Clin. Nutr.*, **27**:777, 1974.
  38. Schneider, R. E. & F. E. Viteri. Studies on the luminal events of lipid absorption in protein-calorie malnourished (PCM) children; its relation

- with nutritional recovery and diarrhea. II. Alterations in the bile acids of the duodenal content. *Am. J. Clin. Nutr.*, 27:788, 1974.
39. Viteri, F. E., C. Contreras & R. E. Schneider. Intestinal malabsorption in malnourished children and during recovery. Duodenal content of lipase, nitrogen, and micellar fat after fat stimulation. *Arch. Latino-amer. Nutr.*, 22:613, 1972.
  40. Viteri, F. E., J. M. Flores, J. Alvarado & M. Béhar. Intestinal malabsorption in malnourished children before and during recovery. Relation between severity of protein deficiency and the malabsorption process. *Am. J. Dig. Dis.*, 18:201, 1973.
  41. Viteri, F. E. & R. E. Schneider. Gastrointestinal alterations in protein-calorie malnutrition. *Med. Clin. North America*, 58:1487, 1974.
  42. Lindenbaun, J., J. W. Hamon & C. D. Gerson. Subclinical malabsorption in developing countries. *Am. J. Clin. Nutr.*, 25:1056, 1972.
  43. Rosenberg, I. H., N. W. Solomons & R. E. Schneider. Malabsorption associated with diarrhea and intestinal infection. *Am. J. Clin. Nutr.*, 30:1248, 1977.