

ELIZETE APARECIDA LOMAZI

IDENTIFICAÇÃO DE AGENTES ENTEROPATOGÊNICOS
(BACTÉRIAS, VÍRUS E PARASITAS) NAS FEZES DE CRIANÇAS COM
DIARRÉIA AGUDA NA CIDADE DE PAULÍNIA - S.P.

CAMPINAS, 1990

L837i

13038/BC

Este exemplar corresponde à versão
final da Dissertação de Mestrado apresentada
à Faculdade de Ciências Médicas
da UNICAMP pela médica Elizete
Aparecida Lomazi
Campinas, 09 de janeiro de 1991.

Edgard Ferro Collares
Prof. Dr. Edgard Ferro Collares
- Orientador -

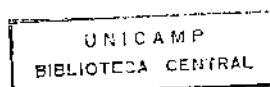
ELIZETE APARECIDA LOMAZI

IDENTIFICAÇÃO DE AGENTES ENTEROPATOGÊNICOS
(BACTÉRIAS, VÍRUS E PARASITAS) NAS FEZES DE CRIANÇAS COM
DIARRÉIA AGUDA NA CIDADE DE PAULÍNIA - S.P.

Dissertação apresentada à Faculdade
de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção
do Título de Mestre em Pediatria.

Orientador: Prof. Dr. Edgard Ferro Collares
Co-Orientador: Prof. Dr. Giuseppe Sperotto

CAMPINAS, 1990



Aos meus pais Mário e Irene
que participam com amor e
estímulo em todas as etapas de
minha vida.

Agradecimentos

Ao PROF. DR. EDGARD FERRO COLLARES

Agradeço com respeito e admiração a preciosa orientação na elaboração deste trabalho e o exemplo permanente de profissionalismo e dedicação.

v

Ao PROF.DR. GIUSEPPE SPEROTTO

Agradeço a inestimável colaboração na análise estatística, diagramação e em outros momentos fundamentais da elaboração deste trabalho.

Ao PROF.DR. ANDRÉ MORENO MORCILLO

Pelo imprescindível auxílio na estruturação do banco de dados e pelo socorro nos momentos em que as dificuldades de informática superaram o conhecimento deste autor.

À PROFa. DRa. LUCILA COSTALLAT RICCI

Pela pesquisa das enterotoxinas e fatores de aderência de Escherichia coli enterotoxigênica e pelo estímulo constante.

À PROFa. MARIA SILVIA VICCARI GATTI

Pela pesquisa dos agentes virais e pelo exemplo de dedicação profissional.

Aos amigos ADILÉYA, ELIANETE, CRISTINA, CARLOS, NEGRÃO e FARIDEH pelo estímulo permanente e colaboração para que este trabalho fosse concluído.

As amigas MARISTELA e DENISE consideração especial pela grande amizade e pelo valioso apoio de sempre.

Aos funcionários do Laboratório do Hospital Municipal de Paulínia, LUIS e SÉRGIO pela grande colaboração.

Ao Departamento de Patologia Clínica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP - Setor Microbiologia pelo trabalho inestimável, apoio e interesse

Aos pediatras do Centro de Saúde Escola de Paulínia pelo imprescindível auxílio.

À Sra. MARIA MARTA DO ROSÁRIO COLLARES agradeço pela dedicação e cuidado dispensados na revisão ortográfica.

À Srta. MARIA APARECIDA MENDES pelo auxílio no trabalho datilográfico.

Ao amigo WASHINGTON BRASIL pela amizade e colaboração inestimáveis.

Ao amigo FARID pelo grande auxílio na fase final de organização do texto.

Aos alunos do internato que sempre compreendem e respeitam a difícil tarefa de conciliar assistência, pesquisa e ensino.

As crianças, razão e objetivo de nossa atividade.

A pesquisa bacteriológica no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas da UNICAMP contou com o apoio financeiro do FAP - Fundo de Apoio à Pesquisa da UNICAMP.

ÍNDICE

I	- INTRODUÇÃO.....	01
II	- CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	09
	1. CASUÍSTICA.....	10
	2. EXAMES LABORATORIAIS.....	12
	3. AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL.....	25
	4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
III	- RESULTADOS.....	26
	1. ANÁLISE CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA.....	27
	2. DADOS REFERENTES AO EPISÓDIO DIARRÉICO.....	40
	3. IDENTIFICAÇÃO DOS ENTEROPATÓGENOS.....	42
	4. CORRELAÇÃO DOS AGENTES ENTEROPATOGÊNICOS IDENTIFICADOS COM AS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO- EPIDEMIOLÓGICAS DOS EPISÓDIOS DE DIARRÉIA.....	60
	5. PACIENTES INSTITUCIONALIZADOS.....	65
IV	- DISCUSSÃO.....	67
V	- CONCLUSÕES.....	91
VI	- RESUMO.....	94
VII	- RESUMO EM INGLÊS.....	97
VIII	- REFERÊNCIAS.....	100
IX	- APÊNDICE.....	121

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA I	- DISTRIBUIÇÃO DOS EPISÓDIOS DE DIARRÉIA QUANTO AO LOCAL DE ATENDIMENTO.....	28
TABELA II	- DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA.....	29
TABELA III	- DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES DE ACORDO COM O SEXO.....	30
TABELA IV	- DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES DE ACORDO COM A COR DA PELE.....	31
TABELA V	- DISTRIBUIÇÃO MENSAL DOS EPISÓDIOS DE DIARRÉIA.....	32
TABELA VI	- DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES DE ACORDO COM A FREQUÊNCIA ÀS INSTITUIÇÕES.....	33
TABELA VII	- DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES DE ACORDO COM A RENDA.....	34
TABELA VIII	- DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES DE ACORDO COM O ABASTECIMENTO DOMICILIAR DE ÁGUA.....	35
TABELA IX	- DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES DE ACORDO COM O DESTINO DAS FEZES NO DOMICÍLIO.....	36
TABELA X	- DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES DE ACORDO COM O ESTADO NUTRICIONAL.....	37

TABELA XI	- DISTRIBUIÇÃO DOS EPISÓDIOS DE DIARRÉIA DE ACORDO COM O TIPO DE ALEITAMENTO EM CRIANÇAS COM IDADE ENTRE 1 E 24 MESES.....	38
TABELA XII	- DISTRIBUIÇÃO DA POPULAÇÃO DO MUNICÍPIO E DA CASUÍSTICA ESTUDADA DE ACORDO COM AS TAXAS DE URBANIZAÇÃO EM PORCENTAGEM.....	39
TABELA XIII	- DISTRIBUIÇÃO DOS EPISÓDIOS DE DIARRÉIA DE ACORDO COM A DURAÇÃO DA DOENÇA.....	40
TABELA XIV	- DISTRIBUIÇÃO DO NÚMERO E FREQUÊNCIA NA UTILIZAÇÃO DE MEDICAMENTOS NOS EPISÓDIOS ATENDIDOS E INVESTIGADOS.....	41
TABELA XV	- NÚMERO E FREQUÊNCIA RELATIVA (%) DOS EPISÓDIOS COM INVESTIGAÇÃO POSITIVA PARA AGENTES BACTERIANOS DE ACORDO COM O MÊS DE OCORRÊNCIA.....	46
TABELA XVI	- NÚMERO E FREQUÊNCIA RELATIVA (%) DOS EPISÓDIOS COM INVESTIGAÇÃO POSITIVA PARA AGENTES VIRAIS DE ACORDO COM O MÊS DE OCORRÊNCIA.....	47
TABELA XVII	- NÚMERO E FREQUÊNCIA RELATIVA (%) DOS EPISÓDIOS COM INVESTIGAÇÃO POSITIVA PARA AGENTES PARASITÁRIOS DE ACORDO COM O MÊS DE OCORRÊNCIA.....	48

TABELA XVIII - NÚMERO E FREQUÊNCIA RELATIVA (%) DOS ENTEROPATÓGENOS IDENTIFICADOS NOS 288 EPISÓDIOS INVESTIGADOS.....50

TABELA XIX - NÚMERO E FREQUÊNCIA RELATIVA (%) DOS ENTEROPATÓGENOS COMO AGENTE ÚNICO OU ASSOCIADO NOS 288 EPISÓDIOS INVESTIGADOS.....52

TABELA XX - FREQUÊNCIA GLOBAL DE CADA ENTEROPATÓGENO E FREQUÊNCIA COM QUE OCORREU EM ASSOCIAÇÃO.....53

TABELA XXI - NÚMERO E FREQUÊNCIA RELATIVA (%) DAS ASSOCIAÇÕES BACTÉRIA/BACTÉRIA E VÍRUS/BACTÉRIA DETECTADAS NOS 288 EPISÓDIOS DE DIARRÉIA AGUDA54

TABELA XXII - NÚMERO TOTAL DE CADA ENTEROPATÓGENO BACTERIANO E VIRAL E FREQUÊNCIA COM QUE OCORREU EM ASSOCIAÇÃO à Giardia lamblia.....54

TABELA XXIII - NÚMERO E FREQUÊNCIA RELATIVA (%) DAS ESPÉCIES DE Shigella sp.....56

TABELA XXIV - NÚMERO E FREQUÊNCIA RELATIVA (%) DOS ENTEROPATÓGENOS COMO AGENTE ÚNICO OU EM ASSOCIAÇÃO, EM 31 EPISÓDIOS EM QUE HOVE IDENTIFICAÇÃO DE AGENTE (S) ENTEROPATOGÊNICO (S) NUM TOTAL DE 52 EPISÓDIOS DE DIARRÉIA AGUDA REFERENTES A CRIANÇAS QUE FREQUENTAVAM CRECHES.....66

ÍNDICE DE FIGURAS

- FIGURA 1 - FREQUÊNCIA DOS ENTEROPATÓGENOS IDENTIFICADOS NAS FEZES DE PACIENTES COM EPISÓDIO DE DIARRÉIA AGUDA.....43
- FIGURA 2 - DISTRIBUIÇÃO MENSAL DOS EPISÓDIOS EM QUE FOI IDENTIFICADO BACTÉRIA E VÍRUS E A SUA RELAÇÃO COM A TEMPERATURA MENSAL MÉDIA OBSERVADA NO MESMO PERÍODO.....45
- FIGURA 3 - FREQUÊNCIA RELATIVA (%) DOS FENÓTIPOS DE E. coli ENTEROTOXIGÊNICAS QUANTO À PRODUÇÃO DE TOXINAS TERMOLÁBIL (LT) E TERMOESTÁVEL (STa) NOS 54 EPISÓDIOS EM QUE ESTA BACTÉRIA FOI IDENTIFICADA.....55
- FIGURA 4 - FREQUÊNCIA RELATIVA (%) DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS NAS AMOSTRAS DE Shigella sp ISOLADAS NOS 288 EPISÓDIOS DE DIARRÉIA AGUDA INVESTIGADOS.....58
- FIGURA 5 - FREQUÊNCIA RELATIVA (%) DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS NAS AMOSTRAS DE E. coli ENTEROPATOGÊNICA CLÁSSICA ISOLADAS NOS 288 EPISÓDIOS DE DIARRÉIA AGUDA INVESTIGADOS.....59

- FIGURA 6 - DISTRIBUIÇÃO DOS EPISÓDIOS (Nº.) EM QUE FORAM ISOLADAS E. coli ENTEROTOXIGÊNICAS, DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA (MESES).....61
- FIGURA 7 - DISTRIBUIÇÃO DOS EPISÓDIOS (Nº.) EM QUE FORAM ISOLADAS AMOSTRAS DE Shigella sp, DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA (MESES).....61
- FIGURA 8 - DISTRIBUIÇÃO DOS EPISÓDIOS (Nº.) EM QUE FOI ISOLADO ROTAVÍRUS, DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA (MESES).....62
- FIGURA 9 - DISTRIBUIÇÃO DOS EPISÓDIOS (Nº.) EM QUE FORAM ISOLADAS E. coli ENTEROPATOGÊNICAS, DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA (MESES).....62

INTRODUÇÃO

Nos países em desenvolvimento, a maioria das mortes na infância é uma consequência da associação sinérgica entre dois fatores: infecção e pobreza (PICKERING,1985). Entre as condições peculiares à pobreza encontram-se 1^o.) a superpopulação e a inadequação dos domicílios, que favorecem a transmissão de doenças; 2^o.) a ausência de infra-estrutura sanitária, que torna o meio ambiente contaminado e que propicia a multiplicação de insetos vetores; 3^o.) o baixo nível educacional e a desnutrição, que comprometem, particularmente, a saúde infantil. Neste contexto encontra-se, com destaque, a doença diarréica aguda, enfermidade de ocorrência mundial e que se constitui num grave problema de saúde pública nos países não industrializados, onde o primeiro ataque da doença ocorre geralmente nos primeiros meses de vida e, muitas vezes, determina o início de um ciclo recorrente com a desnutrição, que aumenta a susceptibilidade a infecções entéricas e, conseqüentemente, diarréia, levando quase sempre à morte (WALSH & WARREN, 1979; FEACHEM, HOGAN & MERSON,1985).

A doença diarréica aguda é uma das principais causas de mortalidade nos países em desenvolvimento (PUFFER & SERRANO,1973). Na América Latina morrem, a cada ano, cerca de 1 milhão de crianças menores de cinco anos, a maioria destas com menos de 1 ano de idade e, em mais de 250.000, a causa básica de morte é a diarréia (RIVERON-CORTEGUERA & MUNIZ,1982). No Brasil, nas áreas menos favorecidas como o Nordeste do país, a mortalidade infantil excede a 14% e, mais da metade destes óbitos está relacionada com a diarréia, tanto como causa primária quanto como causa associada de morte (SILVA et alii,1988). No Estado de São Paulo, em 1984-1985, apurou-se uma incidência da doença de 7,6 episódios por 100 crianças, por mês (BENICIO et alii, 1987), constituindo-se na terceira causa mais

freqüente de mortalidade infantil (RASSI,1988). A relevância destes dados enfatiza a necessidade de medidas efetivas na redução da morbidade e da mortalidade pela doença. Este enfoque requer, primariamente, medidas preventivas para o controle, medidas que, embora sejam perfeitamente conhecidas - aleitamento natural, melhoria dos serviços de saneamento básico, diminuição dos níveis de contaminação alimentar, etc, - infelizmente não estão ao alcance de toda população dos países em desenvolvimento (SNYDER & MERSON,1982). Ao lado destes procedimentos, dentro das atitudes de combate à doença, encontra-se a necessidade de estudos epidemiológicos sobre a incidência e etiologia da diarreia.

O conhecimento etiológico da diarreia aguda permite orientar os procedimentos terapêuticos e auxilia o desenvolvimento de técnicas para o controle da doença (CONFERÊNCIA SANITÁRIA PANAMERICANA,1975 ; DuPONT,1984). A etiologia das diarreias agudas vem sendo estudada desde o final do século passado, quando, em 1875, FRIEDRICH LOSCH associou a um quadro de colite em um jovem de 24 anos de idade o achado de amebas no material fecal, e comprovou o poder patogênico destes parasitas administrando-os, por via oral, a cães (apud CARRADA-BRAVO,1989).

As primeiras pesquisas quanto à etiologia bacteriana são referentes às Salmonelas e foram realizadas em 1880 na investigação da febre tifóide; na mesma década, foram isoladas as espécies S. typhimurium e S. paratyphi A de casos de diarreia em humanos (apud BIER,1977). ROBERT KOCK, no Egito e na India, em 1884 analisando o conteúdo intestinal em necrópsias de pacientes coléricos demonstrou a presença de um bastonete gram negativo ao qual atribuiu a causa da doença e que denominou de Kommabazilus, atualmente denominado de Vibrio cholerae (apud BIER,1977). Em 1896, no Japão, SHIGA isolou o agente causal de uma epidemia de disenteria o qual recebeu seu nome para designar o gênero Shigella (apud Bier,1977). Em 1885, foi descrita por THEODOR ESCHERICH a Escherichia coli (apud BIER,1977). No início do século seguinte, ADAM, em 1923, e GOLDSCHMIDT, em 1933, demonstraram a capacidade deste agente em determinar a diarreia aguda (apud RASSI,1988). A aceitação oficial da Escherichia coli como agente

de diarreia aguda em humanos ocorreu na década de 40, em Londres, quando foi isolado por BRAY um sorotipo enteropatogênico que causava diarreia, desidratação e, muito freqüentemente, o óbito de crianças numa enfermaria de pediatria (apud MURAHOVSKI, 1989).

Por muito tempo foram conhecidos como causa da diarreia aguda apenas os agentes clássicos: Vibrio cholerae, Shigella, Salmonella, sorotipos enteropatogênicos clássicos de Escherichia coli (EPEC), e Entamoeba histolytica. Atualmente, estes microorganismos são encontrados em aproximadamente 20% dos pacientes com a doença, sendo que as incidências variam entre diferentes populações (OLARTE, 1985).

A partir do início da década de 60 foram identificados outros agentes enteropatogênicos. Assim, em 1963, foi demonstrada por SÉRENY (1963) a capacidade invasora de certos sorotipos de Escherichia coli (EIEC). Mais tarde, SMITH & HALLS (1967) mostraram que cepas de Escherichia coli eram capazes de provocar diarreia através da produção, concomitante ou não, de dois tipos de toxinas: uma termoestável (ST) e outra termolábil (LT). Posteriormente, demonstrou-se que dois passos estariam envolvidos na patogenicidade da Escherichia coli enterotoxigênica (ETEC). Primeiramente, estas amostras deveriam ser capazes de colonizar o epitélio do intestino delgado do hospedeiro através de antígenos superficiais específicos, que puderam ser identificados na maioria das vezes morfológicamente como "pili" ou fímbrias (GAASTRA & GRAAF, 1982) e que são genericamente denominados fatores de colonização, antígenos de aderência, adesinas, ou CFAs, para as ETEC de origem humana (EVANS et alii, 1975 ; EVANS & EVANS Jr., 1978). O segundo passo para o desenvolvimento da enteropatia seria a produção das enterotoxinas (LEVINE, 1987). Em 1972, a Yersinia enterocolitica foi incluída entre os demais agentes causais de diarreia, na família das enterobacteriaceas (apud TRABULS, 1981). Em 1973 os rotavírus foram descritos por BISHOP et alii (1973) que os identificaram, com o emprego da microscopia eletrônica, em fragmentos de biópsia intestinal de crianças com diarreia aguda nas quais não havia sido identificado qualquer agente bacteriano conhecido. Atualmente, os vírus têm sido relatados como uma das principais causas de diarreia aguda na infância

em todo o mundo (COOK et alii,1990). Bactérias do gênero Campylobacter foram identificadas no início deste século como vibriões patogênicos em animais e, em 1973, na Bélgica, foram demonstradas como causa comum de diarreia em humanos (BUTZLER et alii,1973). Durante a última década Campylobacter jejuni (inicialmente conhecido como Campylobacter fetus subsp jejuni) vem emergindo como um agente comum da doença diarreica (BUTZLER & SKIRROW,1979; BLASER & RELLER,1981).

Os avanços na área da investigação da diarreia aguda, nestes últimos anos, relacionam-se à descoberta cada vez mais freqüente de novos agentes enteropatogênicos. Propriedades patogênicas peculiares diferenciam cepas de Escherichia coli, caracterizando-as como agentes fisiopatologicamente distintos. Entre elas estão cepas de E. coli com capacidades enteroadesivas, descritas por NATARO et alii (1985), amostras de E. coli O157 que causam colite hemorrágica aguda e sorogrupos de E. coli que produzem toxinas semelhantes à de Shiga, reconhecidas como agentes etiológicos da Síndrome Hemolítico Urêmica (CANTEY,1985). Entre outros gêneros, destacam-se também as Aeromonas sp e Plesiomonas sp, cujos dados com relação ao significado etiológico são conflitantes nos países em desenvolvimento (BURKE et alii,1983; MORGAN et alii,1985; HERRINGTON et alii,1987).

Além dos avanços da microbiologia, nos anos recentes, foi identificado como agente causal de diarreia em humanos o protozoário Cryptosporidium spp. Foi inicialmente detectado por TYZZER, em 1907, (apud LOUREIRO, LINHARES & MATA,1986), em cobaias e os dois primeiros casos em humanos foram publicados em 1976 (MEISEL et alii,1976; NIME et alii,1976). Atualmente, este parasita tem sido descrito como causa de diarreia em crianças e adultos, em diversas partes do mundo (CASEMORE & JACKSON,1983; MATHAN et alii,1985).

Tais avanços na pesquisa etiológica vêm permitindo a realização de estudos epidemiológicos que visam estabelecer a importância global de cada enteropatógeno na etiologia da doença diarreica aguda. Com isto, nos últimos 10 anos, o número de agentes virais, bacterianos e parasitários, identificados em seres humanos com diarreia aguda nos países em desenvolvimento tem dobrado. Atualmente, um agente

infeccioso potencialmente patogênico pode ser isolado de muitas crianças com a doença e mais que um agente enteropatogênico pode ser isolado em 15 a 30% dos episódios (BLACK et alii,1982; GUERRANT et alii,1983; TAYLOR et alii,1986). No entanto, esses estudos devem ser analisados com cautela, visto que os agentes causais são muito diferentes de uma região para outra, e generalizações sobre etiologia e epidemiologia dos patógenos não são válidas, a menos que o grupo populacional seja definido sócio-economicamente e geograficamente.

Deste modo, conhece-se atualmente muito mais a doença causada por certos patógenos, em populações específicas de pacientes e em determinadas áreas geográficas e estas informações não permitem fazer inferências populacionais. Em nosso meio, embora as referências sejam consideráveis, estudos sobre a prevalência dos principais enteropatógenos visaram, em sua maioria, populações de baixo nível sócio-econômico de grandes centros urbanos e mesmo nestes centros, em grupos populacionais específicos como os que freqüentam ambulatórios, unidades de pronto atendimento e pacientes internados em unidades hospitalares (TRABULSI et alii,1985a; TRABULSI et alii,1985b; QUEIRÓZ et alii,1987; PEREZ et alii,1988; KITAGAWA et alii,1989).

Conhecendo estas informações seria desejável o estudo do problema em comunidades menores do interior dos Estados, onde as prevalências etiológicas podem ser distintas. Dentro deste contexto apresenta-se a cidade de Paulínia como um núcleo para o estudo, tendo em vista várias condições que são oferecidas, entre elas a ligação do Serviço de Saúde do Município com a Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, por intermédio de convênio com a UNICAMP, o que já permitiu a realização de estudos sobre as condições sócio-econômicas da sua população.

A cidade localiza-se na Região Centro Sul do Estado de São Paulo, entre o rio Atibaia, no qual despeja seus esgotos e poluentes industriais, e o Jaguari, do qual capta sua água de abastecimento. Pertence à XI Região de Governo do Estado de São Paulo (Sede em Campinas-SP). Sua área geográfica totaliza 144 km² sendo 88 Km² pertencentes à área urbana e 56 Km² pertencentes à zona rural. Nos

últimos 20 anos a população da cidade apresentou um surto de crescimento de 443,7%, decorrente da implantação, em 1964, da Refinaria de Petróleo do Planalto (REPLAN); a população estimada em 1988 foi de 37.000 habitantes (DIVISÃO DE PLANEJAMENTO DA PREFEITURA MUNICIPAL DE PAULÍNIA, 1988). Cerca de 90% dos habitantes localizam-se em área urbana (DIPLAN, 1988), predomínio que decorre de sua principal atividade econômica que é a indústria que, juntamente com o setor comercial emprega 60% da população economicamente ativa. No ano de 1987, a cidade apresentou um crescimento vegetativo de 0,97% ao ano (DIPLAN, 1988); porém, o crescimento populacional na década de 70-80 foi, basicamente, secundário ao crescimento migratório. A prefeitura da cidade mantém o funcionamento de 10 creches que recebem crianças de 3 meses a 3 anos e de 11 pré-escolas freqüentadas por crianças de 3 a 6 anos de idade.

De acordo com os dados da DIPLAN (1988), 99% dos domicílios estão ligados à rede geral de água e 79% à rede de esgotos.

Os serviços de saúde são oferecidos por um hospital privado e pelo Hospital Municipal, um Centro de Saúde, um Pronto Socorro, um Centro de Reabilitação e três Postos de Saúde periféricos. Noventa por cento da população utiliza o serviço público de saúde (DIPLAN, 1988).

O Coeficiente de Mortalidade Infantil para os anos de 1987 e 1988 foram respectivamente 25,4 e 18,5 por mil nascidos vivos. Uma análise das mortes na infância revelou que em Paulínia, no ano de 1989, ocorreram 18 óbitos no primeiro ano de vida, apenas dois após os 28 dias de idade, os 16 restantes se concentraram na primeira semana de vida (CENTRO DE SAÚDE ESCOLA DE PAULÍNIA, 1990).

O Centro de Saúde Escola de Paulínia (CSEP) atende, mensalmente, aproximadamente 1500 crianças, em 4% é feito diagnóstico de diarreia aguda (CSEP, 1990); das crianças atendidas no Pronto Socorro Municipal (cerca de 1700 atendimentos mensais) em torno 5% tem como diagnóstico principal a doença diarreica aguda (SERVIÇO DE ARQUIVO MÉDICO E ESTATÍSTICA DO HOSPITAL MUNICIPAL DE PAULÍNIA, 1990).

Dentro deste contexto e com a infraestrutura de diagnóstico laboratorial disponível, o presente trabalho tem por objetivo identificar os enteropatógenos mais frequentemente encontrados nas fezes de crianças com diarreia aguda endêmica, no Município de Paulínia.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

1. CASUÍSTICA

1.1 População Estudada

Num período de 12 meses consecutivos, de outubro de 1987 a setembro de 1988, foram atendidas crianças com episódio de diarreia aguda no ambulatório do Centro de Saúde Escola de Paulínia (CSEP) e no Pronto Socorro do Hospital Municipal de Paulínia (PSHMP).

No período da pesquisa, para aqueles pacientes que procuravam os serviços do CSEP e do PSHMP com queixa compatível com o diagnóstico de diarreia aguda, sempre que possível e no momento da consulta, foi preenchida, pelo médico consultante uma ficha, anexa em Apêndice, contendo dados clínico-epidemiológicos referentes ao paciente e ao episódio de diarreia. Utilizou-se como critério para diagnóstico de diarreia aguda a definição da Sociedade Paulista de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição em que "diarreia aguda é a diarreia de origem predominantemente infecciosa (viral, bacteriana ou parasitária), de evolução potencialmente autolimitada (tempo de evolução não superior a 10 dias)" (FAGUNDES Neto, 1983b). Ao término da consulta, o paciente era encaminhado ao Laboratório do Hospital Municipal de Paulínia (HMP), onde se colhia amostra de fezes para estudo.

O número e a distribuição durante o ano, tanto dos episódios atendidos como das amostras de fezes pesquisadas não obedeceram a qualquer restrição prévia, sendo apenas limitados pela procura espontânea dos serviços de atendimento clínico e de coleta.

1.2 Serviços Médicos de Atendimento

O CSEP e o PSHMP são serviços mantidos pela Prefeitura do Município de Paulínia onde o atendimento é feito em convênio com a

Faculdade de Ciências Médicas da UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. Estes serviços proporcionam assistência médica gratuita e atendem uma ampla faixa da população de Paulínia.

1.3 Faixas Etárias

As idades das crianças foram estabelecidas como entre 1 mês a 12 anos incompletos e agrupadas em cinco faixas etárias: 0 a 6 meses incompletos, 6 a 12 meses incompletos, 12 a 24 meses incompletos, 24 a 60 meses incompletos e 60 meses ou mais.

1.4 Ficha Clínico - Epidemiológica

No momento da consulta, a pessoa responsável pela criança foi entrevistada e a ficha-protocolo (em apêndice) foi preenchida.

1.5 Coleta das Amostras de Fezes

Aquelas crianças que, após a consulta, procuraram o laboratório do Hospital Municipal de Paulínia foram submetidas à coleta de material fecal no mesmo dia em que foi realizada a consulta clínica.

As amostras de fezes foram obtidas por evacuação espontânea ou por sondagem retal. O material depositado num recipiente estéril era dividido em 5 alíquotas, que eram colocadas em recipientes plásticos rotulados com o número da ficha da criança na pesquisa e encaminhadas para os diferentes laboratórios:

1.5.1 Laboratório do Hospital Municipal de Paulínia

Para este serviço encaminharam-se as amostras para exame parasitológico e a fresco de fezes, sendo este último realizado imediatamente após a coleta. Para pesquisa de Cryptosporidium spp, a

amostra era transferida para um recipiente plástico contendo formol a 10% e guardada em geladeira a -4°C até o momento do exame.

1.5.2 Laboratório de Microbiologia do Hospital das Clínicas da UNICAMP

A este laboratório foram encaminhadas as alíquotas para a realização da cultura de fezes. O material coletado era transportado do local onde foi colhido até o HC - UNICAMP em dois tipos de meios de transporte: glicerina tamponada e meio de Cary-Blair (CARY & BLAIR, 1964).

1.5.3 Laboratório do Departamento de Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biologia / UNICAMP

Para este serviço encaminhou-se, em recipiente de isopor contendo gelo, amostra de fezes para pesquisa de agentes virais. Também foram realizados neste laboratório os testes para pesquisa das enterotoxinas STa e LT em Escherichia coli.

2. EXAMES LABORATORIAIS

2.1 Pesquisa de Bactérias

2.1.1 Isolamento de Enterobactérias - Meios de cultura

A semeadura nos meios de isolamento foi realizada no máximo três horas após a coleta da amostra.

Os meios de isolamento e as respectivas condições de incubação estão apresentados no esquema que se segue:

MEIO DE ISOLAMENTO	AGENTE	INCUBAÇÃO Temp. (°C)/Período	
AGAR EMB AGAR MAC CONKEY	<u>E. coli</u>	37	24 hs
AGAR MAC CONKEY AGAR VERDE BRILHANTE (após enriquecimento em caldo tetracionato) AGAR SS	<u>Salmonella</u> sp	37	24 hs
AGAR SS AGAR MAC CONKEY	<u>Shigella</u> sp	37	24 hs
AGAR BASE (*) adicionado de 7,5% de SANGUE DESFIBRINADO DE CARNEIRO E CAMPYLOFAR (**)	<u>Campylobacter</u> sp	42	48 hs
AGAR SS adicionado de 2% de desoxicolato de sódio	<u>Yersinia</u> sp	37	24 hs

2.1.2 Meios para Identificação Bioquímica

A identificação bioquímica de Escherichia coli, Shigella sp, Salmonella sp e Yersinia sp foi realizada nos meios de EPM (***) (TOLEDO, FONTES & TRABULSI, 1982b) e MILi (***) (TOLEDO et alii, 1982a) que nos permitiu a observação da utilização da dextrose; da produção de urease, desaminação da fenilalanina, descarboxilação da lisina, motilidade e produção de indol. A produção de H₂S foi observada no

(*) DIFCO Laboratórios

(**) CEFAR FARMACO DIAGNÓSTICA LTDA

(***) PROBAC DO BRASIL

meio de T.S.I. (*) e a utilização do citrato no meio de Agar Citrato de Simmons (**) (EDWARDS & EWING, 1982).

2.1.3 Identificação Sorológica

2.1.3.1 Escherichia coli

As colônias isoladas e identificadas bioquimicamente como Escherichia coli foram analisadas sorologicamente com soros hiperimunes específicos, através de aglutinação em lâmina. Foram usados soros polivalentes (*) que permitiram a identificação dos grupos EPEC e EIEC de E. coli. Culturas negativas para EPEC e EIEC foram encaminhadas para pesquisa de produção das enterotoxinas LT e STa. Os soros anti-EPEC compreendem os polivalentes A, B e C. O soro polivalente A, contém anticorpos contra os antígenos 026, 055, 0111 e 0119, o polivalente B contra os antígenos 0114, 0125, 0142 e 0158 e o polivalente C contra os antígenos 086, 0126, 0127 e 0128. Os soros anti-EIEC compreendem os soros polivalentes A e B. O soro polivalente A contém anticorpos contra os antígenos 028ac, 029, 0136, 0144 e 0152 e o polivalente B contém anticorpos contra E. coli 0112ac, 0124, 0143, 0164 e 0167.

2.1.3.2 Shigella sp e Salmonella sp

As colônias identificadas bioquimicamente como Shigella foram submetidas a testes sorológicos de aglutinação em lâmina para as quatro espécies do gênero (S. dysenteriae, S. flexneri, S. boydii e S. sonnei), utilizando-se os soros polivalentes específicos anti-Shigella que compreendem S. dysenteriae poli 1 (sorotipos 1,2,3,4,5,6 e 7) e poli 2 (sorotipos 8ab,8ac,9 e 10), S. flexneri (sorotipos 1,2,3,4,5,6 e variantes X e Y), S. boydii poli 1 (sorotipos 1,2,3,4,5,6 e 14), poli 2

(*) PROBAC DO BRASIL

(**) DIFCO Laboratórios

(sorotipos 8,9,10 e 11) e poli 3 (sorotipos 7,12,13 e 15) e S. sonnei (formas I e II) (*).

As amostras sugestivas de Salmonella pela série bioquímica foram submetidas ao teste de aglutinação em lâmina utilizando anti-soros somáticos polivalentes e flagelares (*). O soro somático polivalente anti-Salmonella contém anticorpos contra os antígenos somáticos das salmonelas dos grupos A,B,C1,D,E1,E2,E3,E4 e contra o antígeno Vi. O soro polivalente anti-Salmonella flagelar contém anticorpos contra os antígenos flagelares a,b,c,d,i,1,2 e 5.

2.1.3.3. Yersinia sp

Após 48 horas de incubação e a identificação bioquímica complementar (KELLY et alii,1985) as colônias foram submetidas à prova de aglutinação com anti-soros específicos (*) para Yersinia enterocolitica, polivalente (contém anticorpos contra os sorotipos 0:3, 0:5, 0:8 e 0:9 de Y. enterocolitica).

2.1.4 Pesquisa de E. coli enterotoxigênica (ETEC)

O material fecal foi semeado em meio de Mac Conkey (**), as colônias lactose positivas semeadas na série bioquímica e aquelas identificadas sorologicamente como não pertencentes aos grupos EPEC e EIEC foram então cultivadas em meio de "Casamino Acids-Yeast Extract" (CAYE) (CASTRO et alii,1980). As amostras em estudo foram semeadas em frascos de Erlenmeyer de 125 ml, contendo 10 ml do meio de CAYE e incubadas a 37°C em estufa de agitação (CONTROLLED ENVIRONMENT INCUBATOR SHAKER - NEW BRUNSWICK SCIENTIFIC CO.) em 150 rpm, por 18 horas. Após este período, as culturas foram, então, centrifugadas a 3000 rpm a 4°C, por 40 minutos, o sobrenadante separado e estocado a -20°C. A partir desses sobrenadantes foram pesquisadas as toxinas STa e LT.

(*) PROBAC DO BRASIL

(**) DIFCO Laboratórios

A toxina LT de E. coli encontra-se intimamente relacionada à enterotoxina da cólera (CT) em estrutura, antigenicidade e modo de ação (CLEMENTS & FINKELSTEIN, 1978; CLEMENTS et alii, 1980).

As LT produzidas por cepas de E. coli procedentes de seres humanos possuem determinantes antigênicos comuns e peculiares, que podem ser neutralizados pela antitoxina contra CT. A toxina colérica, no entanto, é mais facilmente obtida no comércio de drogas para laboratório, por isto, foi utilizada na identificação da LT. Soro antitoxina colérica foi preparado, em cavalo, inoculando-se 800 µg da toxina, por via intramuscular, utilizando-se na primeira dose o Adjuvante Completo de Freund (ACF). Doses de reforço foram administradas após 25 e 50 dias, estando a toxina colérica emulsionada em Adjuvante Incompleto de Freund (AIF). Após 10 dias, procedia-se à sangria para a prova.

Para evitar reações cruzadas devidas a anticorpos heterófilos contra hemácias de carneiro, utilizadas nos testes de identificação de LT, todos os soros foram previamente decomplementados a 56° C por 30 minutos e absorvidos por 3 vezes com concentrado destas hemácias.

2.1.4.1 Pesquisa de enterotoxina termoestável (STa)

Esta toxina foi pesquisada através do teste em camundongo recém-nascido (DEAN et alii, 1973) inoculando-se, por animal, por via intragástrica, 0,1 ml dos sobrenadantes de cultura em meio de CAYE, aos quais adicionou-se uma gota de solução de azul de Evans a 1%. Após 3 horas, sacrificava-se os camundongos (3 por amostra) e seus intestinos eram removidos e pesados. As carcaças também eram pesadas e quando os valores da relação peso dos intestinos/peso das carcaças eram iguais ou superiores a 0,085, a amostra era considerada positiva para STa.

2.1.4.2 Prova sorológica para detecção da enterotoxina termolábil (LT)

Na detecção da toxina LT foi utilizada a prova sorológica correspondente ao teste da imuno-hemólise radial modificada-IHRM (YANO et alii,1982), desenvolvida sobre um suporte de agarose. Inicialmente, as hemácias foram lavadas em solução fisiológica e em tampão trietanolamina adicionado de íons cálcio e magnésio (LIMA & SILVA,1970). Com o concentrado de hemácias obtido, foi preparada uma suspensão, no mesmo tampão, que diluída a 1/20 em água destilada, tivesse uma absorvância correspondente a 0,42 de D.O. a 550 nm. A imuno-hemólise radial foi realizada, utilizando-se tampas de placas de microtitulação de 8 x 12 cm, misturando-se 1,3 ml de hemácias padronizadas a 14,6 ml de agarose a 1%, em tampão trietanolamina, acrescido de 0,02% de azida sódica como conservante. Após a solidificação do gel, eram feitos orifícios de 4 mm, nos quais 15 μ l de cada amostra, a ser analisada, foram aplicados.

As placas de agarose permaneciam, então, à temperatura ambiente por 18 horas, aplicando-se, após este período, 15 μ l de soro de cavalo antitoxina colérica, deixando-se difundir o mesmo por cerca de 4 horas. Complemento obtido de cobaias, diluído a 1/10, em tampão trietanolamina era, então, vertido sobre as placas até cobri-las, permanecendo as mesmas a 37°C por 2 horas. A leitura e respectiva medida dos halos hemolíticos, foram feitas após 18 horas de permanência das placas à temperatura ambiente. Foram consideradas positivas, as provas cujos halos foram iguais ou superiores a 5 mm.

2.1.4.3 Pesquisa dos Fatores de Aderência

Foram pesquisados, nas amostras identificadas como do grupo ETEC, as seguintes fímbrias de aderência (fatores de colonização): CFA/I (EVANS, EVANS & TJOA, 1977a), CFA/II (EVANS et alii, 1978) e CFA/

IV (PCF8775) (THOMAS et alii,1982), através das provas de hemaglutinação manose resistente e de soroaglutinação.

a) Prova de Hemaglutinação Manose Resistente (MRHA)

Na realização das provas de MRHA, as hemácias humanas, bovinas e de galinha coletadas em solução de citrato de sódio a 3,8% ou em Alsever, foram lavadas por 3 vezes, em salina 0,15 M, e suspensas a 2% em PBS 0,05 M, pH 7,4, contendo 0,5% de D-manose. Em uma lâmina de vidro, foi colocada uma gota do mesmo tampão, onde as culturas foram homogeneizadas até a obtenção de uma suspensão leitosa, e misturadas, a 4°C, com uma gota da hemácia em teste. A leitura foi considerada positiva, quando observavam-se nítidos grumos vermelhos. Foi considerado como padrão hemaglutinante de CFA/I amostras capazes de hemaglutinar hemácias humanas, bovinas e de galinha; de CFA/II, as capazes de hemaglutinar hemácias bovinas e de galinha e de CFA/IV as que hemaglutinavam hemácias humanas e bovinas.

b) Prova de Soroaglutinação

Reações de aglutinação foram realizadas com os anti-soros CFA/I, CFA/II e CFA/IV. Soros específicos contra CFA/I e CFA/II foram preparados a partir de amostras padrão portadoras de fímbrias purificadas pelo mesmo método utilizado por YANO et alii (1986). Para o preparo da fímbria CFA/I purificada utilizou-se a amostra TR 50/3 e para preparo da fímbria CFA/II a amostra TR 298/12. Ambas as amostras gentilmente enviadas pela Dra. Beatriz Ernestina Gabillio Guth, da Escola Paulista de Medicina. No preparo dos anti-soros, os antígenos purificados foram inoculados em coelhos, por via intramuscular, utilizando-se na primeira dose, 50 µg dos mesmos, emulsionados em adjuvante completo de Freund. Após 25 e 50 dias do início da inoculação, repetiu-se a mesma dose, estando, então, o antígeno emulsionado em adjuvante incompleto de Freund. Após 10 dias, foi feita a sangria de prova e os testes de reatividade dos mesmos.

No preparo do soro contra a fímbria CFA/IV foi utilizada a técnica da bacterina (suspensão bacteriana formolizada) tendo sido a imunização realizada inoculando-se a bactéria morta em coelhos, por via endovenosa. Inoculou-se uma suspensão padronizada na escala 3 de Mac Farland. Como inóculo foram utilizados volumes de 0,2 ml no primeiro dia de inoculação, aumentado para 0,5 ml no 4º. dia, 1,0 ml no 8º. dia, 2,0 ml no 12º. e 16º. dias. No 26º. dia após o início da imunização, foi realizada a sangria de prova e os soros preparados contra as fímbrias de aderência tiveram seus títulos determinados por técnicas de aglutinação em tubo, aglutinação em lâmina e imunodifusão em gel (contra o antígeno semi-purificado).

Com amostras padrão de CFA/I e CFA/II, também foram preparados soros anti-bacterinas, da mesma forma que para CFA/IV. Todos os soros preparados por esta técnica foram absorvidos antes dos testes com as amostras correspondentes cultivadas a 16º.C, temperatura onde as fímbrias de colonização codificadas por plasmídios não são expressas, conservando, entretanto, os outros antígenos.

As provas antígeno-anticorpo, por soroaglutinação foram realizadas em lâmina, à temperatura ambiente, misturando-se as suspensões bacterianas preparadas em salina aos anti-soros específicos. Para as provas de hemaglutinação e soroaglutinação as amostras pesquisadas foram semeadas em meio CFA (EVANS et alii, 1977a) e incubadas a 37º.C por 24 horas.

2.1.5 Identificação do Gênero Campylobacter

Para isolamento de bactérias do gênero Campylobacter, as amostras de fezes transportadas no meio de Cary-Blair foram semeadas em placas de Agar Base (**), às quais acrescentou-se 7,5% de sangue desfibrinado de carneiro. Foram ainda adicionados os seguintes antimicrobianos: trimetoprim, vancomicina e polimixina B, em mistura disponível comercialmente (*). A seguir, as placas foram colocadas em jarra onde

(*) CAMPYLOFAR-CEFAR FARMACO DIAGNÓSTICA LTDA

(**) DIFCO Laboratórios

a condição de microaerofilia foi obtida pela adição de uma mistura de gás, composta de 95% de N₂ e 5% de CO₂. Após 48 horas de incubação, a 42°C, em ambiente úmido, das colônias com aspecto característico, foram preparados esfregaços posteriormente corados pelo Gram (BIER,1977) e sua micromorfologia observada à microscopia óptica. A identificação do gênero foi feita por meio de provas bioquímicas através dos testes de catalase e de oxidase (FERNANDEZ,1983).

2.1.6 Antibiograma

As culturas positivas para EPEC, EIEC, Shigella sp e Salmonella sp foram submetidas a provas de sensibilidade antimicrobiana através do método de difusão em agar (BAUER et alii,1966) utilizando-se as seguintes drogas: amicacina, ampicilina, carbenicilina, cefotaxima, cefoxitina, cloranfenicol, sulfametoxazol e gentamicina, que são empregadas nos testes de rotina do Departamento de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas da UNICAMP. O teste foi realizado utilizando-se discos disponíveis comercialmente (*) contendo as seguintes concentrações das drogas: amicacina 30 µg, ampicilina 10 µg, carbenicilina 100 µg, cefotaxima 30 µg, cefoxitina 30 µg, cloranfenicol 30 µg, sulfametoxazol 30 µg e gentamicina 10 µg.

Nesta técnica, as amostras são inoculadas em meio líquido BHI (**) e incubadas a 37°C até obter ligeira turvação; posteriormente, são diluídas na turvação correspondente à metade do tubo número 01 da escala de Mac Farland e semeadas em placas contendo agar Müeller Hinton (**). Após cerca de 7 minutos, os discos de antibióticos são colocados sobre o agar em disposição e distância recomendadas pelo fabricante. Transcorridas 18 a 24 horas de incubação a 37°C, foram então medidos os halos de inibição e comparados com as medidas padrão do método para cada antibiótico.

Não foi possível submeter as amostras de ETEC ao teste de sensibilidade aos antibióticos.

(*) CEFAR FARMACO DIAGNÓSTICA LTDA

(**) DIFCO Laboratórios

2.2 Pesquisa de Rotavírus e Adenovírus Entéricos

As técnicas utilizadas foram o ensaio imuno enzimático combinado para rotavírus e adenovírus, (EIARA), (PEREIRA et alii,1985) e eletroforese em gel de poliacrilamida para rotavírus, (EGPA), (PEREIRA,1983).

2.2.1 Ensaio Imuno-Enzimático Combinado (EIE)

O teste de EIE foi realizado com um "kit" da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, gentilmente cedido pelo Dr. H.G. Pereira e seguindo as recomendações deste pesquisador (PEREIRA,1983).

O EIE para rotavírus e adenovírus foi realizado utilizando-se a amostra sob teste, previamente recoberta por um anticorpo chamado anticorpo de "captura", posteriormente, a presença do antígeno viral é detectada por um segundo anticorpo denominado anticorpo "detector" e que foi preparado em um animal de espécie diferente daquele usado como origem do soro de "captura". O segundo anticorpo "detector" é então revelado por um anticorpo antiIgG espécie-específico conjugado a uma enzima e a um substrato adequado que dá coloração à reação. A leitura foi feita visualmente, por comparação, com antígeno-controle (amostra de rotavírus SA 11 e adenovírus tipo 2).

A ausência de reação cruzada entre rotavírus e adenovírus permite que as duas reações sejam feitas ao mesmo tempo. A especificidade da reação é dada pelo anticorpo de "captura".

2.2.2 Eletroforese em gel de poliacrilamida (EGPA)

Dada a sua característica de apresentar um genoma segmentado, os rotavírus também foram estudados pela técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida, (EGPA), (PEREIRA,1983).

A eletroforese foi realizada pela técnica de LAEMMLI (1970) com modificações introduzidas por PEREIRA (1983).

Para esta análise, 10 a 20 % da suspensão fecal em tampão-fosfato salina, 0,15 M, pH 7,4 (PBS), foi desproteïnizada por extração com fenol-clorofórmio e posteriormente precipitada com etanol, como descrito por PEREIRA (1983).

Os extratos de ARN obtidos a partir do material fecal foram analisados em gel de poliacrilamida a 7%, com corrida durante 18 horas, à temperatura ambiente, sob corrente de 10 mA, sendo em seguida corados com prata conforme descrição de HERRING et alii (1982).

A visualização do padrão típico de rotavírus, isto é, 11 segmentos de ARN ds (dupla fita) foi considerada como indicação de resultado positivo.

2.3 Pesquisa de Parasitas

2.3.1 Pesquisa de Cryptosporidium spp

O método utilizado para pesquisa do protozoário Cryptosporidium spp foi a coloração em lâmina com safranina a quente contrastada com azul de metileno, de acordo com a técnica proposta por BAXBY, BLUNDELL & HART (1984).

As amostras de fezes foram examinadas após período de estocagem de 5 dias em recipientes plásticos selados, identificados com o número

do paciente e contendo formalina a 10%. O material fecal diluído (se necessário) em soro fisiológico a 0,9% foi peneirado em gaze dobrada 4 vezes; posteriormente este material sofreu 3 centrifugações por 5 minutos em 2000 rpm e 3 lavagens sucessivas. Foram realizados 3 esfregaços diferentes, um deles com o material peneirado mas não centrifugado, outros dois com o sobrenadante e com o sedimento mais pesado após centrifugação.

A coloração com safranina e azul de metileno consiste nos seguintes passos:

1. Secagem do esfregaço em temperatura ambiente,
2. Fixação através de uma passagem rápida da lâmina sobre a chama de Bunsen,
3. Fixação química em HCl a 3% em metanol, por 3 a 5 minutos,
4. Lavagem com água,
5. Coloração com safranina aquosa a 1%, por 60 segundos. Posteriormente, a lâmina foi aquecida até o aparecimento de bolhas, adicionava-se mais corante e repetia-se o aquecimento,
6. Lavagem com água,
7. Contraste do esfregaço com azul de metileno a 1%, por trinta segundos,
8. Lavagem com água,
9. Secagem em temperatura ambiente e exame em microscopia óptica (Microscópio NYKON ALPHAPHOT YS) com aumento de 400 x e, depois, objetiva de imersão (aumento de 1000 x).

2.3.2 Pesquisa de Enteroparasitas

Método direto para pesquisa de trofozoítas

Baseado na técnica proposta por AMATO Neto & CORREA (1980) foram seguidos dois passos, a saber:

a. Utilizando-se fezes colhidas a menos de 20 minutos eram realizados 2 esfregaços em lâmina de vidro: um deles diluído em solução fisiológica a 0,9% (quando necessário) e ao outro acrescentado uma gota de lugol; cobria-se os esfregaços com lamínula,

b. Exame ao microscópio óptico (NYKON ALPHAPHOT YS).

Método de Sedimentação para pesquisa de cistos e ovos de helmintos

Foi realizado com base na técnica de LUTZ (AMATO Neto et alii, 1980) e consiste nas seguintes etapas:

a. Duas a quatro gramas de fezes foram colocadas em frasco de Borrel onde acrescia-se 10 ml de água quando fosse necessário para amolecimento do material que, neste caso, era deixado nessas condições por 10 a 20 minutos,

b. a seguir foi realizada emulsão das fezes usando palito de plástico, juntando aproximadamente 20 ml de água,

c. a suspensão foi coada através de gaze dobrado 4 vezes, recolhida em vaso cônico apropriado, no qual, durante 6 horas, sedimentou-se espontaneamente,

d. com pipeta de vidro obturada por borracha de tubo conta-gotas recolheu-se do fundo do vaso amostra da porção inferior do sedimento que foi colocada sobre lâmina, coberta com lamínula e examinada ao microscópio óptico (NYKON ALPHAPHOT YS).

3. AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL

O estado nutricional dos pacientes no momento do estudo foi avaliado pelo Critério de Gomez (GOMEZ,1946), utilizando-se como padrão de referência o percentil 50 da Curva do NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS (NCHS,1977).

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na análise estatística da distribuição das amostras colhidas e daquelas com identificação do agente, em várias condições (frequência de acordo com o mês do ano e faixa etária) foi empregado o Teste de Aderência de Pearson (CONOVER, 1971).

Definiu-se para o teste o valor de alfa = 0,05.

RESULTADOS

1. ANÁLISE CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA

1.1 Aspectos Gerais

Nos 12 meses de estudo foram avaliados 490 episódios de diarreia aguda (episódios atendidos) em 445 crianças, sendo que em 288 episódios (episódios investigados) detectados em 282 pacientes, foi colhida amostra de fezes para pesquisa de agentes enteropatogênicos. Esses dois grupos de pacientes são bastante semelhantes como pode ser observado a seguir.

1.1.1 Local de Atendimento

Na tabela I é apresentada a distribuição dos episódios de diarreia, de acordo com o local de atendimento. Na amostra geral que inclui todos os episódios observou-se maior número de atendimentos no Centro de Saúde Escola de Paulínia (CSEP), enquanto que entre os episódios investigados laboratorialmente o número de pacientes atendidos no CSEP foi semelhante ao número de pacientes atendidos no Pronto Socorro (PSHMP).

TABELA I - Distribuição dos episódios de diarreia quanto ao local de atendimento

LOCAL	EPISÓDIOS ATENDIDOS		EPISÓDIOS INVESTIGADOS	
	No.	%	No.	%
CSEP	329	67,1	136	47,2
PSHMP	147	30,0	139	48,2
Enfermaria-HMP	13	2,6	12	4,2
Não Especificado	1	0,2	1	0,3
TOTAL	490	100,0	288	100,0

CSEP = Centro de Saúde Escola de Paulínia
 PSHMP = Pronto Socorro do Hospital Municipal de Paulínia
 HMP = Hospital Municipal de Paulínia

1.1.2 Idade

A idade das crianças no momento do estudo variou entre 1 mês a 12 anos. A distribuição segundo a faixa etária é apresentada na tabela II, onde pode-se notar o predomínio de crianças menores de 2 anos de idade.

TABELA II - Distribuição dos pacientes de acordo com as faixas etárias

GRUPO ETÁRIO (meses)	CRIANÇAS ATENDIDAS		CRIANÇAS INVESTIGADAS	
	No.	%	No.	%
1 — 6	43	9,7	26	9,2
6 — 12	91	20,4	55	19,5
12 — 24	136	30,6	91	32,3
24 — 60	101	22,7	54	19,1
60 —	70	15,7	54	19,1
Não Especificado	4	0,9	2	0,7
TOTAL	444	100,0	282	100,0

1.1.3 Sexo

Na tabela III é apresentada a distribuição dos pacientes quanto ao sexo; observa-se um predomínio do sexo masculino nos dois grupos.

TABELA III - Distribuição dos pacientes de acordo com o sexo

SEXO	PACIENTES ATENDIDOS		PACIENTES INVESTIGADOS	
	No.	%	No.	%
Masculino	257	57,8	174	61,7
Feminino	179	40,2	103	36,5
Não Especificado	9	2,0	5	1,8
TOTAL	445	100,0	282	100,0

1.1.4 Cor da Pele

Na distribuição das amostras quanto à cor da pele foi encontrado um predomínio de brancos que ocorreram em mais de 70% dos casos, em ambos os grupos, conforme demonstrado na tabela IV.

TABELA IV - Distribuição dos pacientes de acordo com a cor da pele

COR DA PELE	PACIENTES ATENDIDOS		PACIENTES INVESTIGADOS	
	No.	%	No.	%
Branco	326	73,2	206	73,0
Não Branco	88	19,8	53	18,8
Não Especificado	31	7,0	23	8,2
TOTAL	445	100,0	282	100,0

1.1.6 Origem da Doença Diarréica

Em nenhum episódio ficou caracterizada doença diarréica secundária à infecção hospitalar.

1.1.7 Freqüência às Instituições

A tabela VI mostra o número e a porcentagem de pacientes que freqüentavam creches, parques infantis ou escolas públicas, no momento do episódio diarréico. Observa-se que a maioria das crianças atendidas não estava institucionalizada no momento do estudo e, entre aqueles que freqüentavam alguma instituição, a maior parte (61,4%) estava matriculada em creches.

TABELA VI - Distribuição dos pacientes de acordo com a freqüência às instituições

TIPO DE INSTITUIÇÃO	PACIENTES ATENDIDOS		PACIENTES INVESTIGADOS	
	No.	%	No.	%
Creche	71	16,0	51	18,1
Parque Infantil	26	5,8	25	8,9
Escola Pública	8	1,8	7	2,5
Não Freqüenta	303	68,1	180	63,8
Não Especificado	37	8,3	19	6,7
TOTAL	445	100,0	282	100,0

1.1.8 Renda Mensal

A tabela VII mostra a distribuição da renda mensal por pessoa entre as crianças atendidas e investigadas no momento do estudo. Observa-se em ambos os grupos uma renda inferior ou igual a dois salários mínimos, na maioria dos pacientes.

TABELA VII - Distribuição dos pacientes de acordo com a renda

RENDA (Salários mínimos)	PACIENTES ATENDIDOS		PACIENTES INVESTIGADOS	
	No.	%	No.	%
0 — 1	178	40,0	106	37,6
1 — 2	128	28,8	86	30,5
2 — 3	35	7,9	25	8,9
3 — 12	31	7,0	25	8,9
12 —	2	0,4	1	0,3
Não Especificado	71	15,9	39	13,8
TOTAL	445	100,0	282	100,0

1.1.9 Saneamento Básico Domiciliar

1.1.9.1 Abastecimento de água

A tabela VIII mostra a distribuição dos pacientes atendidos e dos investigados, de acordo com o abastecimento de água em seus domicílios. Os dados revelam que nos dois grupos mais de 70% dos pacientes residiam em domicílios providos de água tratada e fornecida através de serviço público.

TABELA VIII - Distribuição dos pacientes de acordo com o abastecimento domiciliar de água

ABASTECIMENTO DE ÁGUA	PACIENTES ATENDIDOS		PACIENTES INVESTIGADOS	
	No.	%	No.	%
Rêde Pública	322	72,3	209	74,1
Outras Fontes	116	26,1	68	24,1
Não Especificado	7	1,6	5	1,8
TOTAL	445	100,0	282	100,0

1.1.9.2 Destino das fezes

Com relação ao destino das fezes temos que, de acordo com a tabela IX, entre os pacientes atendidos, 58,2% referiram rede de esgotos instalada no domicílio, 38,4% referiram existência de fossa séptica. Porcentagens semelhantes com relação a este item foram observadas nos pacientes investigados.

TABELA IX - Distribuição dos pacientes de acordo com o destino das fezes no domicílio

DESTINO DAS FEZES	PACIENTES ATENDIDOS		PACIENTES INVESTIGADOS	
	No.	%	No.	%
Rede de Esgoto	259	58,2	180	63,8
Fossa Séptica	171	38,4	95	33,7
Não Especificado	15	3,4	7	2,5
TOTAL	445	100,0	282	100,0

1.10 Estado Nutricional

Quanto ao estado nutricional foi observada uma distribuição semelhante para os dois grupos de pacientes, havendo um sensível predomínio de crianças com peso adequado para a idade de acordo com o critério utilizado. Estes dados estão apresentados na tabela X.

TABELA X - Distribuição dos pacientes de acordo com o estado nutricional

ESTADO NUTRICIONAL	PACIENTES ATENDIDOS		PACIENTES INVESTIGADOS	
	No.	%	No.	%
Peso adequado	310	69,9	197	69,9
Desn. 1º. grau	102	22,9	61	21,6
Desn. 2º. grau	15	3,4	10	3,6
Desn. 3º. grau	3	0,7	1	0,3
Não Especificado	15	3,1	13	4,6
TOTAL	445	100,0	282	100,0

1.11 Aleitamento Materno

Considerando apenas as crianças entre 1 e 24 meses de idade, a informação sobre o tipo de alimentação no momento do episódio distribuiu-se de acordo com os dados da tabela XI. Nesta tabela pode ser observado, nos dois grupos, que em mais de 70% dos casos, as crianças nesta faixa etária recebiam aleitamento artificial no momento do estudo.

TABELA XI - Distribuição dos episódios de diarreia de acordo com o tipo de aleitamento em crianças com idade entre 1 e 24 meses

ALEITAMENTO	EPISÓDIOS ATENDIDOS		EPISÓDIOS INVESTIGADOS	
	No.	%	No.	%
Materno Exclusivo	10	3,1	3	1,6
Misto	51	15,8	32	17,7
Artificial	231	71,7	131	72,4
Não Especificado	30	9,3	15	8,3
TOTAL	322	100,0	181	100,0

1.12 Taxas de urbanização

A tabela XII apresenta a distribuição da população do município e da casuística estudada com relação aos índices de urbanização. Observa-se que no grupo estudado as taxas de moradores em zonas urbana e rural são semelhantes às porcentagens existentes na cidade, com um predomínio bastante significativo da população urbana.

TABELA XII - Distribuição da população do município e da casuística estudada de acordo com as taxas de urbanização em porcentagem

ÁREA	PAULÍNIA (*)	CASUÍSTICA ESTUDADA (282 episódios)
Urbana	91,76	94,8
Rural	8,24	5,2

(*) FONTE: DIPLAN, 1988

2. DADOS REFERENTES AO EPISÓDIO DIARRÉICO

2.1 Duração do episódio

Considerando o tempo de duração do episódio diarréico observou-se que em aproximadamente 50% dos episódios, em ambos os grupos, a procura do serviço de saúde ocorreu nos primeiros 3 dias de doença. Estes dados são apresentados na tabela XIII.

TABELA XIII - Distribuição dos episódios de diarreia de acordo com a duração da doença

DURAÇÃO DA DIARRÉIA (HORAS)	EPISÓDIOS ATENDIDOS		EPISÓDIOS INVESTIGADOS	
	No.	%	No.	%
1 — 12	43	8,8	18	6,3
12 — 36	139	28,4	77	26,7
36 — 72	89	18,1	49	17,0
72 —	207	42,2	135	46,9
Não Especificado	12	2,5	9	3,1
TOTAL	490	100,0	288	100,0

2.2 Uso de medicamentos

Na tabela XIV são apresentados os dados referentes ao uso de medicamentos. Nos dois grupos a utilização de sintomáticos foi menor que o uso de soro reidratante oral. Aproximadamente metade dos pacientes não utilizava qualquer medicamento no momento da consulta. Entre os sintomáticos incluiu-se antitérmicos, antidiarréicos, antiespasmódicos e antieméticos.

TABELA XIV - Distribuição do número e frequência na utilização de medicamentos nos episódios atendidos e investigados

MEDICAMENTO	EPISÓDIOS ATENDIDOS		EPISÓDIOS INVESTIGADOS	
	No.	%	No.	%
Não Utiliza	261	52,0	119	40,2
SRO	142	28,2	107	36,1
Sintomáticos	43	8,6	36	12,1
Antibióticos	15	3,0	11	3,8
Não especificado	41	8,2	23	7,8
TOTAL	502	100,0	296	100,0

SRO = Solução de reidratação oral

2.3 Complicações da doença diarréica

A desidratação ocorreu em cerca de 5% dos episódios de diarréia nos dois grupos. A frequência de internação variou em torno de 5%. Apenas 1 paciente apresentou quadro de intolerância à lactose diagnosticada como quadro clínico de diarréia do tipo osmótica, medida de pH fecal < 6,0 e presença de substância redutora nas fezes.

3. IDENTIFICAÇÃO DOS ENTEROPATÓGENOS

3.1 Frequência total dos enteropatógenos pesquisados como agente único ou em associação nos 288 episódios de diarréia.

Na figura 1, pode ser observada a frequência geral de positividade dos diferentes agentes pesquisados nas amostras fecais dos 288 episódios de diarréia. Foram encontrados agentes enteropatogênicos em 59,4% das 288 amostras. Em 40,6% dos episódios não foi identificado qualquer agente. Os agentes bacterianos foram os mais frequentes (25%), seguidos dos virais (14,6%) e por último os parasitas (8,7%). A associação de agentes ocorreu em 11,1% dos episódios, sob esta denominação incluiu-se a associação de duas bactérias, uma bactéria e o rotavírus e a associação de um parasita com bactéria ou com vírus.

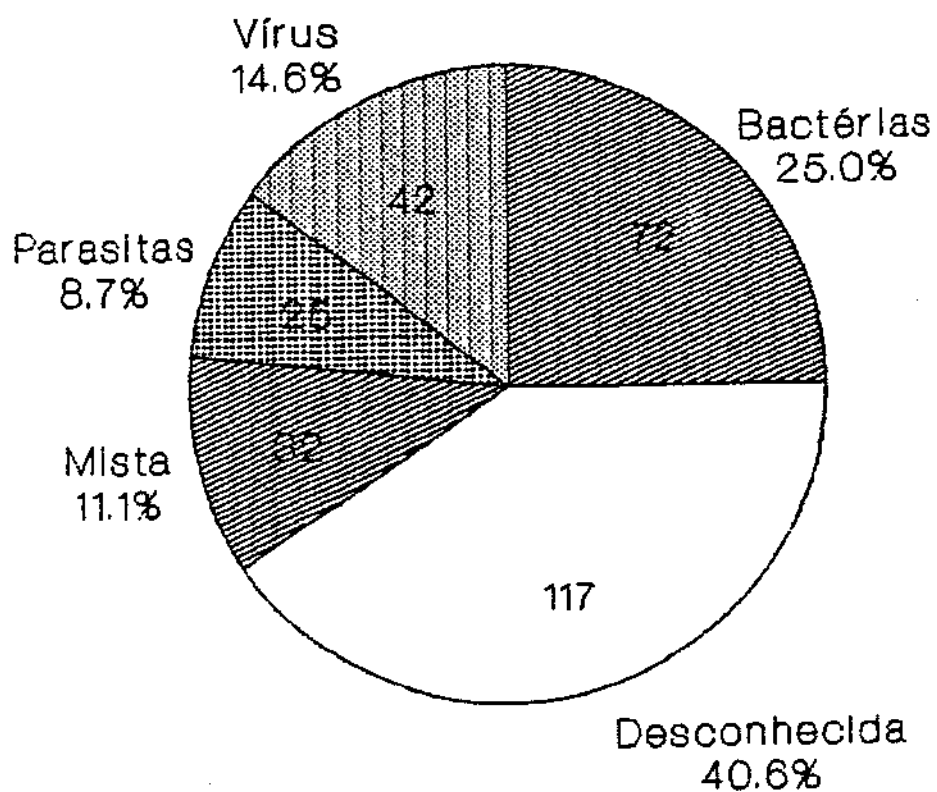


FIGURA 1 - Frequência dos agentes enteropatogênicos identificados nas fezes de pacientes com episódio de diarreia aguda.

3.2 Distribuição dos episódios durante o ano

A figura 2, que corresponde às tabelas XV e XVI, apresenta a distribuição mensal dos episódios em que foi isolado um enteropatógeno bacteriano ou viral, isoladamente, no período de estudo.

A análise estatística que comparou a distribuição do número total de amostras pesquisadas à distribuição dos episódios positivos para agentes bacterianos revelou uma diferença significativa. A mesma análise com relação à distribuição dos agentes virais também mostrou uma distribuição diferente dos episódios pesquisados e dos positivos para rotavírus. Estas diferenças estariam relacionadas ao maior número de episódios positivos para bactérias nos meses de janeiro, fevereiro e março de 1988 e à maior prevalência de rotavírus nos meses de julho e agosto do mesmo ano. O predomínio de bactérias coincidiu com as temperaturas mais elevadas e o de vírus com as temperaturas mais baixas no período de estudo.

A frequência mensal de episódios positivos para agentes parasitários é apresentada na tabela XVII. A análise dos dados não mostrou diferenças entre a distribuição do número de amostras colhidas em cada mês do ano da pesquisa e a distribuição dos episódios positivos para agentes parasitários neste período.

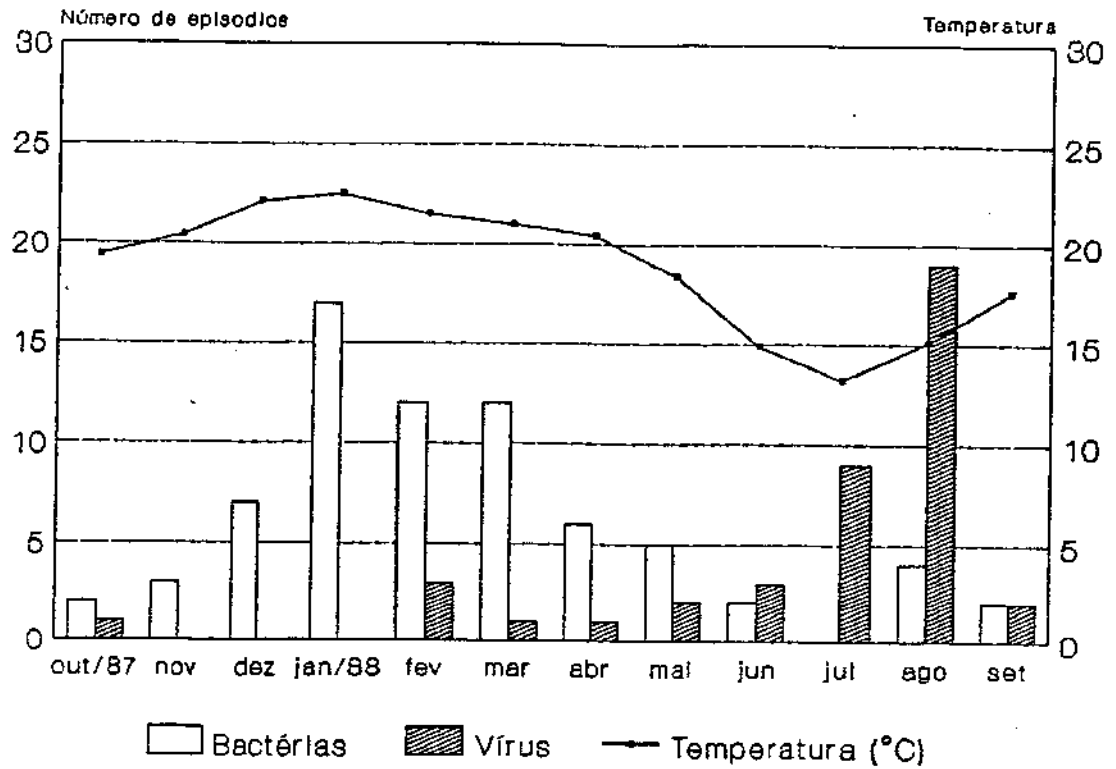


FIGURA 2 - Distribuição mensal dos episódios em que foi identificado bactéria e vírus e a sua relação com a temperatura mensal média (*) observada no mesmo período.

(*) FONTE: REPLAN, 1988

TABELA XV - Número e frequência relativa (%) dos episódios com investigação positiva para agentes bacterianos de acordo com o mês de ocorrência

MÊS/ANO	EPISÓDIOS INVESTIGADOS		INVESTIGAÇÃO POSITIVA	
	No.	%	No.	%
Outubro/87	13	4,5	2	2,8
Novembro	12	4,2	3	4,1
Dezembro	26	9,0	7	9,7
Janeiro/88	44	15,3	17	23,7
Fevereiro	26	9,0	12	16,7
Março	33	11,4	12	16,7
Abril	22	7,6	6	8,3
Maió	24	8,3	5	6,9
Junho	14	4,9	2	2,8
Julho	18	6,2	-	-
Agosto	36	12,5	4	5,5
Setembro	20	6,9	2	2,8
TOTAL	288	100,0	72	100,0

qui-quadrado = 20,083

p = 0,0442

TABELA XVI - Número e frequência relativa (%) dos episódios com investigação positiva para agentes virais de acordo com o mês de ocorrência

MÊS/ANO	EPISÓDIOS INVESTIGADOS		INVESTIGAÇÃO POSITIVA	
	No.	%	No.	%
Outubro/87	13	4,5	1	2,4
Novembro	12	4,2	-	-
Dezembro	26	9,0	-	-
Janeiro/88	44	15,3	-	-
Fevereiro	26	9,0	3	7,1
Março	33	11,4	1	2,4
Abril	22	7,6	1	2,4
Maió	24	8,3	2	4,8
Junho	14	4,9	4	9,5
Julho	18	6,2	9	21,4
Agosto	36	12,5	19	45,2
Setembro	20	6,9	2	4,8
TOTAL	288	100,0	42	100,0

qui-quadrado = 71,391

p < 0,0001

TABELA XVII - Número e frequência relativa (%) dos episódios com investigação positiva para agentes parasitários de acordo com o mês de ocorrência

MÊS/ANO	EPISÓDIOS INVESTIGADOS		INVESTIGAÇÃO POSITIVA	
	No.	%	No.	%
Outubro/87	13	4,5	2	8,0
Novembro	12	4,2	1	4,0
Dezembro	26	9,0	4	16,0
Janeiro/88	44	15,3	5	20,0
Fevereiro	26	9,0	4	16,0
Março	33	11,4	3	12,0
Abril	22	7,6	3	12,0
Maio	24	8,3	-	-
Junho	14	4,9	1	4,0
Julho	18	6,2	-	-
Agosto	36	12,5	1	4,0
Setembro	20	6,9	1	4,0
TOTAL	288	100,0	25	100,0

qui-quadrado = 9,802

p = 0,5483

3.3 Freqüência Isolada dos Agentes Enteropatogênicos

A tabela XVIII apresenta a freqüência total, em ordem decrescente, dos enteropatógenos estudados, considerando o número de vezes em que o agente foi identificado, independente de ser como agente único ou em associação, nos 288 episódios investigados.

Observa-se que o agente mais freqüentemente isolado foi a Escherichia coli enterotoxigênica, em segundo lugar o rotavírus, ambos com porcentagens semelhantes de ocorrência (26,7 e 24,2% respectivamente). Em terceiro lugar encontrou-se a Escherichia coli enteropatogênica com uma prevalência de 15,9%, seguida da Giardia lamblia (14,3%) e da Shigella sp, encontrada em 12,9% dos episódios. A Entamoeba histolytica foi identificada em 3,0% dos episódios, o adenovírus em 1,0% e a Escherichia coli invasiva em 1,0%. O Cryptosporidium spp foi isolado em apenas um episódio. Não foram isoladas bactérias dos gêneros Campylobacter sp, Yersinia sp e Salmonella sp.

TABELA XVIII - Número e frequência relativa (%) dos enteropatógenos identificados nos 202 episódios com identificação positiva

ENTEROPATÓGENO	EPISÓDIOS POSITIVOS	
	No.	%
ETEC	54	26,7
Rotavírus	49	24,2
EPEC	32	15,9
<u>Giardia lamblia</u>	29	14,3
<u>Shigella</u> sp	26	12,9
<u>E. histolytica</u>	6	3,0
Adenovírus	3	1,5
EIEC	2	1,0
<u>Cryptosporidium</u> spp	1	0,5
<u>Campylobacter</u> sp	-	-
<u>Yersinia</u> sp	-	-
<u>Salmonella</u> sp	-	-
TOTAL	202	100,0

3.4 Freqüência dos enteropatógenos isolados como agente único ou associado.

A tabela XIX apresenta a freqüência dos enteropatógenos isolados como agente único ou em associação. O rotavírus foi o patógeno que apresentou maior freqüência. A Escherichia coli enterotoxigênica ocupou o segundo lugar, seguida pelas associações de agentes, Escherichia coli enteropatogênica, Giardia lamblia e Shigella sp. Os agentes parasitários representaram, como agentes únicos, 8,7% do total e quando associados a vírus ou bactéria somam 3,8% dos episódios estudados. Os adenovírus entéricos foram isolados em 3 episódios, o que corresponde a 1,0% do total de amostras pesquisadas. Se considerarmos todos tipos de associações esta ocorrência foi a terceira mais freqüente com porcentagem de 11,1%.

TABELA XIX - Número e frequência relativa (%) dos enteropatógenos como agente único ou associado nos 288 episódios investigados

ENTEROPATÓGENO	EPISÓDIOS	
	No.	%
Rotavírus	39	13,5
ETEC	35	12,1
EPEC	20	7,0
<u>Giardia lamblia</u>	18	6,2
<u>Shigella sp</u>	15	5,2
Associação Bact/Bact	12	4,2
Associação Bact/Paras	10	3,5
Associação Bact/Vírus	9	3,1
<u>Entamoeba histolytica</u>	6	2,0
Adenovírus	3	1,0
EIEC	2	0,7
<u>Cryptosporidium spp</u>	1	0,3
Associação Vírus/Paras	1	0,3
Não Identificado	117	40,6
TOTAL	288	100,0

3.5 Associação de enteropatógenos

A tabela XX mostra, em ordem decrescente, as freqüências com que vários patógenos foram detectados nas associações. A *Shigella* sp foi o agente mais freqüentemente encontrado em associação, em segundo lugar foi a EPEC. A ETEC apresentou porcentagem de associação inferior às da EPEC e da *Shigella* sp. Rotavírus, o segundo patógeno isoladamente mais freqüente, apresentou a menor porcentagem de associação. Não foram observadas associações com *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium* spp e com os adenovírus.

A tabela XXI apresenta o número e a freqüência relativa das diferentes associações de duas bactérias ou de bactérias e vírus, especificando os agentes. A associação mais freqüente foi entre EPEC e ETEC. As demais associações encontradas foram entre *Shigella* sp e ETEC, rotavírus e EPEC, rotavírus e *Shigella* sp e, finalmente, entre EPEC e *Shigella* sp.

As associações com *Giardia lamblia* estão apresentadas na tabela XXII; o agente que mais freqüentemente associou-se a este parasita foi a *Shigella* sp, em segundo lugar esta ETEC e depois EPEC. O rotavírus foi encontrado em associação com a *Giardia lamblia* em apenas um episódio.

TABELA XX - Freqüência global de cada enteropatógeno e freqüência com que ocorreu em associação

ENTEROPATÓGENO	IDENTIFICADOS	EM ASSOCIAÇÃO	
	No.	No.	%
<i>Shigella</i> sp	26	11	42,3
EPEC	32	13	40,6
<i>Giardia lamblia</i>	29	11	37,9
ETEC	54	19	35,2
Rotavírus	49	13	26,5

qui-quadrado = 1,745 p = 0,7825

TABELA XXI - Número e frequência relativa (%) das associações bactéria/bactéria e vírus/bactéria detectadas nos 288 episódios de diarreia aguda

TIPO DE ASSOCIAÇÃO	EPISÓDIOS POSITIVOS	
	No.	%
EPEC / ETEC	6	2,1
<u>Shigella</u> sp / ETEC	5	1,8
Rotavírus / EPEC	4	1,4
Rotavírus / ETEC	3	1,0
Rotavírus / <u>Shigella</u> sp	2	0,7
EPEC / <u>Shigella</u> sp	1	0,3
TOTAL	21	7,3

TABELA XXII - Número total de cada enteropatógeno bacteriano e viral e frequência com que ocorreu em associação à Giardia lamblia

ENTEROPATÓGENO	NÚMERO TOTAL ISOLADO	ASSOCIAÇÃO	
		No.	%
ETEC	54	5	9,2
Rotavírus	49	1	2,0
EPEC	32	2	6,2
<u>Shigella</u> sp	26	3	11,5
EIEC	2	-	-

3.6 Escherichia coli enterotoxigênicas - Fenótipos

Na figura 3 podem ser observados os dados relativos às frequências dos fenótipos de Escherichia coli enterotoxigênica quanto à produção de toxinas nos 54 episódios em que esta bactéria foi identificada. Foram consideradas tanto as amostras identificadas como agente único, como as amostras em que a bactéria ocorreu em associação. Houve predomínio das cepas produtoras da toxina LT (66,7%), produção isolada de enterotoxina STa foi encontrada em 20,4% das cepas e as amostras produtoras de ambas toxinas representaram a minoria, ou seja, 13% do total.

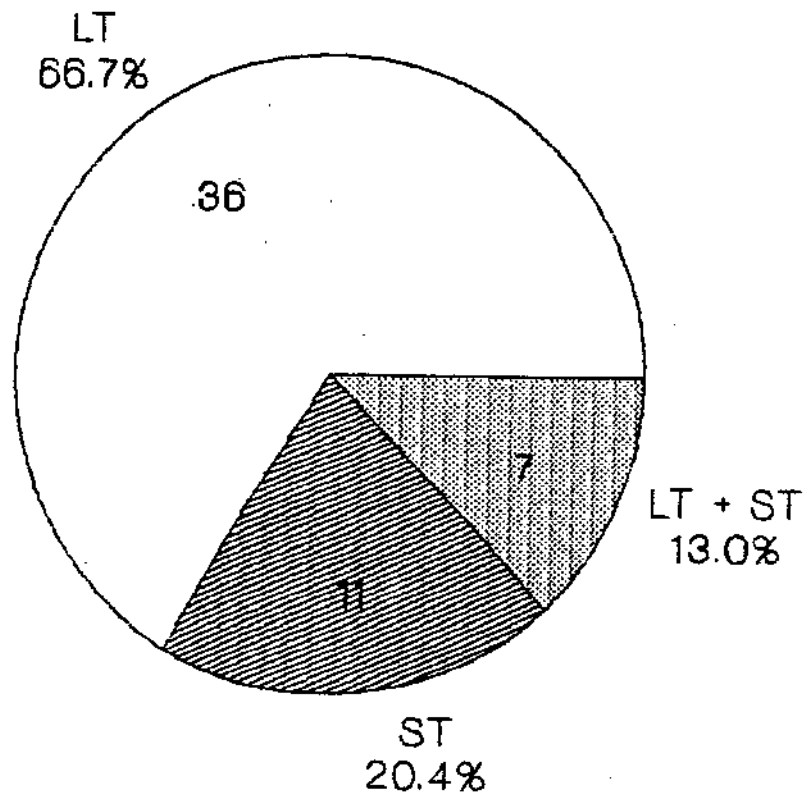


FIGURA 3 - Frequência relativa (%) dos fenótipos de E.coli enterotoxigênicas quanto à produção de toxinas termolábil (LT) e termoestável (STa) nos 54 episódios em que esta bactéria foi identificada.

A pesquisa dos Fatores de Colonização CFA/I, CFA/II, e CFA/IV foi realizada inicialmente através da prova de hemaglutinação, as cepas em que a hemaglutinação foi positiva, para um ou mais dos 3 tipos de hemácias utilizados, foram submetidas à prova de soroaglutinação.

O teste de hemaglutinação foi realizado em 18 amostras de ETEC/LT e em 14 cepas de ETEC/STa e o teste sorológico em 4 E.coli LT e em 4 E.coli STa. Em nenhuma destas amostras confirmou-se a presença dos CFAs pesquisados.

As duas provas puderam ser realizadas uma segunda vez com as ETEC produtoras de LT confirmando-se os achados acima. As amostras STa, no entanto, por motivos técnicos, não foram submetidas à repetição dos testes; entre estas amostras incluía-se uma cepa STa cujo padrão hemaglutinante sugeria a presença de CFA/I.

3.7 Shigella sp - Espécies

Nas 288 amostras de fezes, foram isoladas 26 culturas positivas para Shigella sp; nestas culturas a identificação das espécies revelou apenas duas: Shigella sonnei e Shigella flexneri. Conforme mostra a tabela XXIII, a espécie predominante foi a S.sonnei, com porcentagem de prevalência (73%) muito superior à da S.flexneri (27%).

TABELA XXIII - Número e freqüência relativa (%) das espécies de Shigella sp

ESPÉCIE	EPISÓDIOS COM IDENTIFICAÇÃO POSITIVA	
	No.	%
<u>S.flexneri</u>	7	27
<u>S.sonnei</u>	19	73
TOTAL	26	100

qui-quadrado = 5,539 p = 0,0186

3.8 Antibiograma

Os percentuais de resistência aos antimicrobianos estão apresentados nas figuras 4 e 5. Este teste foi aplicado para as bactérias do gênero Shigella e para as cepas de E. coli do grupo EPEC.

As amostras de Shigella sp mostraram um percentual de resistência à ampicilina e à sulfa superior a 80%. Mais de 50% das amostras apresentou resistência à carbenicilina e 25% mostrou-se resistente ao cloranfenicol. Para as demais drogas (amicacina, gentamicina, cefoxitina e cefotaxima) menos de 20% das cepas foram detectadas como resistentes.

Cerca de 78% das amostras de EPEC mostraram-se resistentes à carbenicilina e à ampicilina. Resistência à sulfa foi encontrada em 42% das amostras e em relação aos demais antimicrobianos o percentual de resistência das cepas não ultrapassou a 12%.

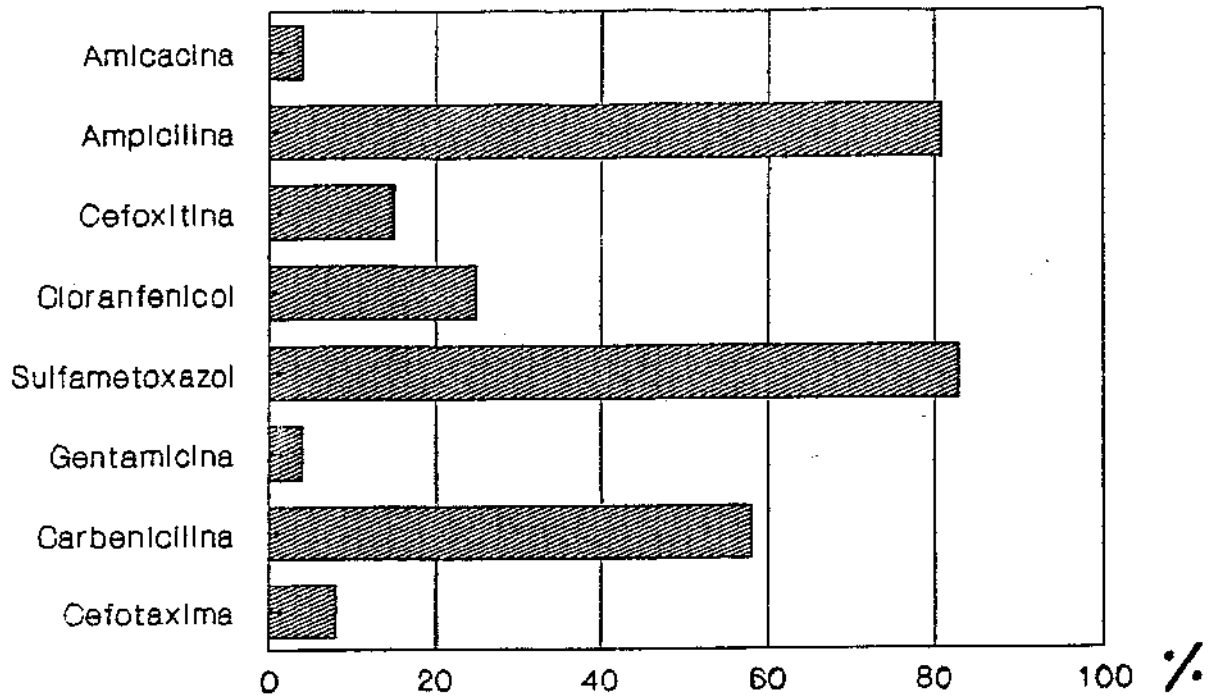


FIGURA 4 - Frequência relativa de resistência aos antimicrobianos nas amostras de *Shigella* sp isoladas nos 288 episódios de diarreia aguda investigados.

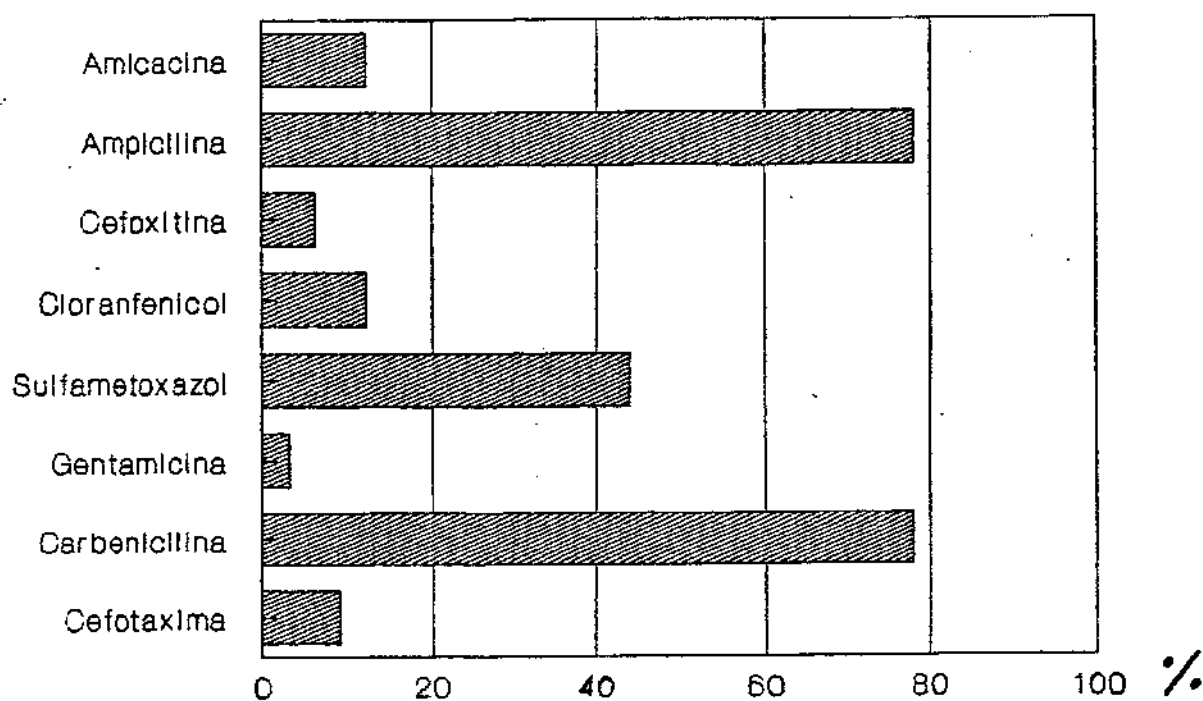


FIGURA 5 - Frequência relativa de resistência aos antimicrobianos nas amostras de *E. coli* enteropatogênica clássica isoladas nos 288 episódios de diarreia aguda investigados.

4. CORRELAÇÃO DOS AGENTES ENTEROPATOGÊNICOS IDENTIFICADOS COM AS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICAS DOS EPISÓDIOS DE DIARRÉIA

4.1 Influência da idade na frequência dos agentes

Considerando a distribuição por faixa etária, nos 288 episódios em que foi colhida amostra de fezes, e comparando esta distribuição com as distribuições das idades encontrada em cada um dos agentes isolados, a análise estatística demonstrou que a positividade para cada agente não apresentou variação diferente em relação aos episódios investigados, apesar da tendência da ETEC e da Shigella sp serem mais freqüentes em crianças com idade superior a 12 meses (Figuras 6, 7, 8 e 9).

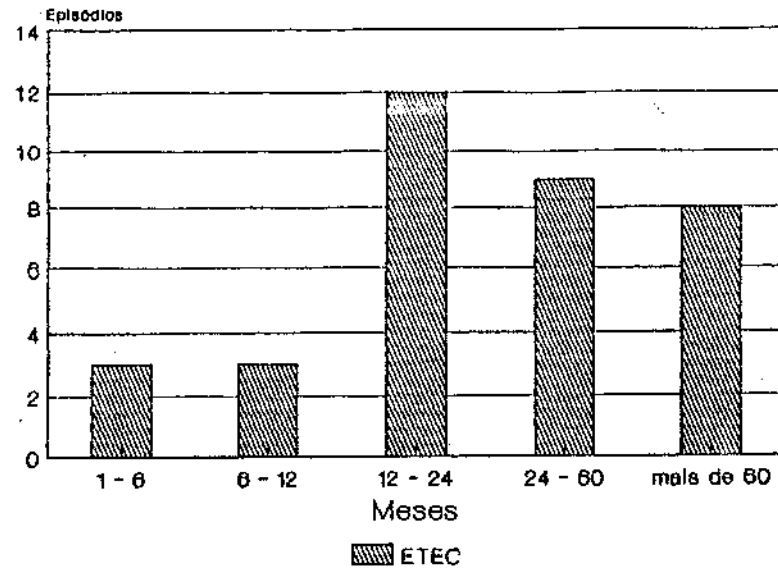


FIGURA 6 - Distribuição dos episódios (N^o.) em que foram isoladas E.coli enterotoxigênicas, de acordo com a faixa etária (meses).

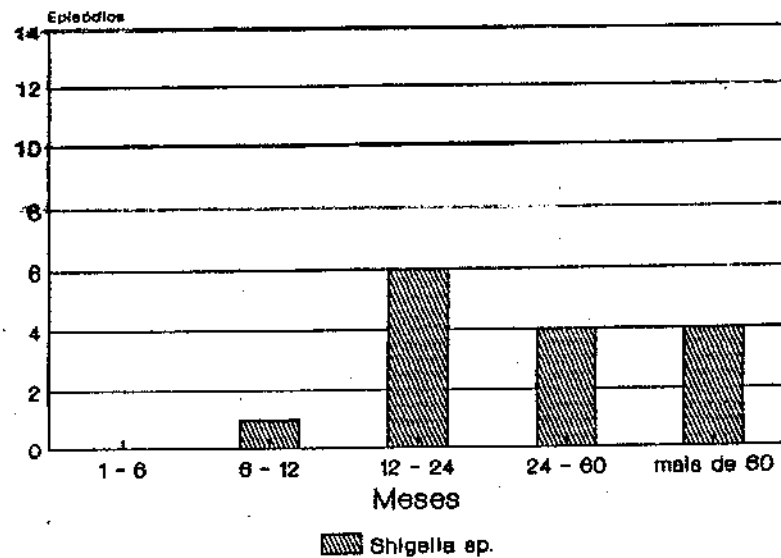


FIGURA 7 - Distribuição dos episódios (N^o.) em que foram isoladas amostras de Shigella sp, de acordo com a faixa etária (meses).

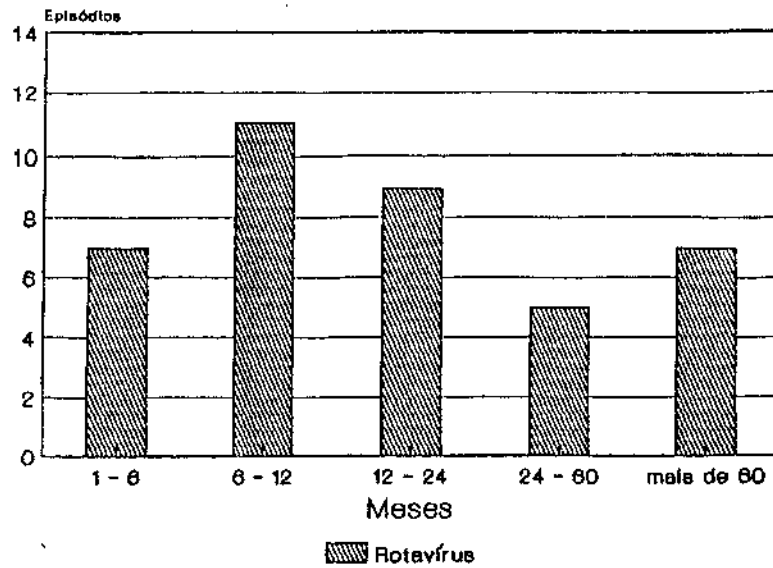


FIGURA 8 - Distribuição dos episódios (N^o.) em que foi isolado rotavírus, de acordo com a faixa etária (meses).

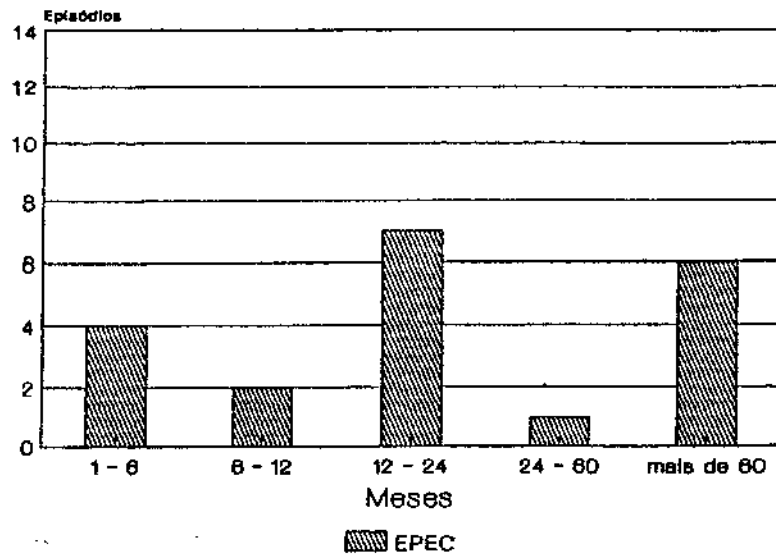


FIGURA 9 - Distribuição dos episódios (N^o.) em que foram isoladas E. coli enteropatogênicas, de acordo com a faixa etária (meses).

4.2 Sinais e sintomas

4.2.1 Rotavírus

Nos 39 episódios em que o rotavírus foi identificado isoladamente, febre foi referida em 76% dos casos, fezes líquidas e evacuações de grande volume em 82%, e vômitos em 74%. Sinais de desidratação foram encontrados em 17% dos episódios.

4.2.2 ETEC

Nos episódios em que este agente foi isolado, febre foi referida em 50% dos casos, vômitos em 54% e em 65% das ocorrências as evacuações foram caracterizadas como líquidas e contendo muco. Em apenas uma criança foram verificados sinais de desidratação.

4.2.3 EPEC

Escherichia coli enteropatogênica esteve associada à febre em 40% das ocorrências, a vômitos em 35% e as fezes foram referidas como líquidas e contendo muco na totalidade dos episódios.

4.2.4 Shigella sp

Em 2/3 dos episódios em que este agente foi identificado foi referida presença de sangue nas fezes. A ocorrência de febre foi relatada em 87% dos episódios e em metade dos pacientes foi referida a ocorrência de vômitos. Desidratação com perda maior que 5% de peso corporal ocorreu em dois pacientes.

4.2.5 Associação de enteropatógenos

Nestes episódios foi referido febre e vômitos na metade dos casos e, na maioria (68%) foram referidas evacuações líquidas sem muco ou sangue. Sinais clínicos de desidratação foram encontrados em apenas um episódio.

Com relação aos demais agentes, o pequeno número de casos não justificou uma análise dos quadros clínicos específicos.

4.3 Renda mensal por pessoa

A comparação estatística da variação da renda mensal por pessoa em 282 pacientes com a variação de renda nos episódios com identificação positiva para cada um dos agentes não mostrou diferença significativa para os seguintes agentes: rotavírus, ETEC, EPEC, Shigella sp e para as associações de agentes.

4.4 Saneamento domiciliar

A infra-estrutura sanitária domiciliar foi avaliada entre os casos em que foram identificados agentes e para cada agente especificamente. Foi encontrado através de análise estatística que, entre os episódios em que foi identificado um agente enteropatogênico, as condições de saneamento foram inferiores, ou seja, menores índices de água tratada pelo serviço público e de rede de esgotos entre os casos com identificação positiva, quando comparados com o total de episódios investigados. Quando se comparou cada agente isolado e as associações, não houve diferença significativa.

5. PACIENTES INSTITUCIONALIZADOS

A tabela XXIV apresenta o número e a frequência relativa (%) dos enteropatógenos detectados nos episódios correspondentes a pacientes registrados em creches no momento do estudo. Foram investigados 52 episódios, em 30 (57,6%) foi identificado um agente enteropatogênico e em um episódio encontrou-se associação de duas bactérias, resultando, finalmente, num percentual de positividade de 59,6%. Rotavírus foi o agente mais frequente (26,0% das amostras), ETEC ocupou o segundo lugar com uma frequência de 22,6% e EPEC ocorreu em 19,3% dos episódios. A Giardia lamblia foi encontrada nos proto parasitológicos de 16,1% dos casos. Entamoeba histolytica, Shigella sp, E.coli invasora e adenovírus ocorreram apenas uma vez em quatro episódios distintos. Associação de 2 microrganismos bacterianos (ETEC + Shigella sp) foi detectada em uma criança.

TABELA XXIV - Número e frequência relativa (%) dos enteropatógenos como agente único ou em associação, em 31 episódios em que houve identificação de agente(s) enteropatógênico(s) num total de 52 episódios de diarréia aguda referentes a crianças que freqüentavam creches.

ENTEROPATÓGENO	EPISÓDIOS COM IDENTIFICAÇÃO POSITIVA	
	No.	%
Rotavírus	8	26,0
ETEC	7	22,6
EPEC	6	19,3
<u>Giardia lamblia</u>	5	16,1
<u>Shigella</u> sp	1	3,2
EIEC	1	3,2
ETEC + <u>Shigella</u> sp	1	3,2
Adenovírus	1	3,2
<u>Entamoeba histolytica</u>	1	3,2
TOTAL	31	100,0

DISCUSSÃO

A presente pesquisa foi desenvolvida num período de 12 meses consecutivos, entre crianças de 1 mês a 12 anos de idade, atendidas em ambulatórios com o diagnóstico de diarreia aguda de duração inferior a 10 dias, na cidade de Paulínia.

A cidade, localizada na região Centro-sul do Estado de São Paulo, caracteriza-se por apresentar um clima temperado; sua população é basicamente urbana (DIPLAN,1988) e as redes de água e esgoto contemplam um percentual significativo dos domicílios. O rendimento médio mensal de pessoas, com 10 anos ou mais, é superior ao observado para o Brasil e semelhante ao encontrado para o Estado de São Paulo (FUNDAÇÃO IBGE,1981; FUNDAÇÃO IBGE,1986; MORCILLO,1988). As condições de saúde do município podem ser consideradas regulares tendo em vista a Curva de Mortalidade Proporcional que apresenta a forma tipo III (FORATTINI,1976; LESER et alii,1985; MORCILLO,1988) e o Coeficiente de Mortalidade Infantil que é inferior ao observado na região Sudeste (MORCILLO,1988; CSEP,1990). A prevalência de desnutrição na cidade foi estudada por GUIMAREY (1983) entre crianças de 5 a 12 anos e por ZANOLLI, MACCHIAVERNI & MIRANDA (1983) entre crianças de 3 a 7 anos; ambos estudos utilizaram o Critério de Gomez (GOMEZ,1946) para classificação e encontraram porcentagens de crianças com peso adequado para a idade de 55 e 65%, desnutridos de 1º. grau de 25 e 35%, de 2º. grau de 3 e 7% e 0 e 0,2% de desnutridos de 3º. grau. Comparando com os dados referentes às características sócio-econômicas, a população envolvida nesta investigação apresenta, em alguns aspectos, percentuais semelhantes à população global da cidade de Paulínia no que se refere à taxa de urbanização, infra-estrutura sanitária e prevalência de desnutrição. Considerando características clínico-epidemiológicas os episódios atendidos e os investigados apresentaram dados muito semelhantes entre si como pode ser observado nas tabelas I

a XI, XIII e XIV. Com relação à renda mensal por pessoa, verificou-se que 68% dos pacientes relataram valor inferior a dois salários mínimos; não foi possível obter dados populacionais que permitissem comparação com os valores encontrados no presente estudo; no entanto, a análise estatística que avaliou as taxas de positividade para os grupos de agentes (bactérias, vírus e parasitas) e para cada agente em particular não demonstrou associações relevantes entre a renda mensal e a identificação positiva de qualquer dos patógenos investigados.

Um ou mais agentes potencialmente enteropatogênicos foram isolados de amostras de fezes em 59,4% dos episódios de diarreia investigados. Estudos recentes relatam identificação de pelo menos um patógeno em 60 a 80% das crianças com diarreia aguda, dos pacientes com "diarreia dos viajantes" e dos adultos com diarreia, nos países em desenvolvimento (DuPONT, 1985; GUERRANT, 1986; QUINN, BENDER & BARTLETT, 1986). Em oito trabalhos que foram publicados nos últimos 10 anos referentes a pacientes ambulatoriais e em que se pesquisou agentes bacterianos, virais e parasitários, observou-se uma porcentagem de isolamento variável entre 49 e 84% (MATA et alii, 1983a; GEORGES et alii, 1984; CEVENINI et alii, 1985; ADKINS et alii, 1987; MOHANDAS et alii, 1987; MUÑOZ et alii, 1987; TANUS et alii, 1987; CASALINO et alii, 1988). Nesta casuística, em 40,6% das amostras fecais nenhum agente enteropatogênico foi identificado; mas, eventualmente, nestas amostras poderiam ter sido identificados enteropatógenos não pesquisados como vírus Norwalk e outros vírus, cepas enteroaderentes de Escherichia coli, Aeromonas sp, Plesiomonas sp, Clostridium difficile, E. coli produtoras de verotoxinas (sorotipos O157:H7 e O26:H11) e Vibrio parahemolyticus.

A prevalência de enteropatógenos em fezes de crianças com diarreia é bastante variável e depende de diversos fatores, entre eles o local, época do ano, faixa etária, o modelo epidemiológico de estudo, as técnicas laboratoriais utilizadas, os métodos de coleta, o número e os patógenos estudados. Os índices de positividade parecem ser maiores quando se analisa pacientes hospitalizados (MATA et alii, 1977; MDL et alii, 1983; KOOPMAN et alii, 1984) e quando a

faixa etária é mais baixa (PICKERING et alii,1978; SEN et alii,1984). Alguns autores têm encontrado, também, maior prevalência em populações de nível sócio-econômico mais baixo (SABRÁ et alii,1987; SUÁREZ & CABANAS,1989). Quanto à época do ano, são vários os trabalhos que associam maiores incidências de certos patógenos em determinadas estações ou períodos de maior precipitação pluviométrica do ano (GUERRANT et alii,1983; MATA et alii,1983b; KIDD, et alii,1986; LINHARES et alii,1989).

Entre os patógenos identificados neste estudo houve predomínio dos agentes bacterianos, detectados em 25,0% dos episódios de diarreia, os vírus corresponderam a 14,6%, os parasitas foram encontrados em 8,7% das amostras e em 11,1% das investigações foi identificado mais de um agente enteropatogênico.

Predomínio bacteriano na pesquisa etiológica da diarreia aguda infantil é encontrado na totalidade dos trabalhos nacionais (MC LEAN et alii,1982; DSMO et alii,1983; TANUS et alii,1987; TEIXEIRA et alii,1987; REIS et alii, 1988; FAGUNDES Neto et alii,1989a; KITAGAWA et alii,1989) e parece ser uma característica peculiar a outros países em desenvolvimento (DE MOL et alii,1983; ARAYA et alii,1985; SIMANGO & DINDIWE,1987; STANTON et alii,1989), contrastando com o predomínio da etiologia viral nos países desenvolvidos (ABBOTT et alii, 1984; CEVENINI et alii,1985; NELSON,1985; NIELSEN et alii,1987).

Os estudos nos países em desenvolvimento mostrando um predomínio da etiologia bacteriana são, em sua maioria, realizados entre as populações mais carentes dos grandes centros urbanos da Índia (KANWAR et alii,1983; SEN et alii,1984), Bangladesh (MOYENUDDIN & RAHMAN,1985), da América Latina (EVANS et alii,1977b; MATA, et alii, 1977; HULL et alii,1982; TRUJILLO et alii,1985) e da África (NAZER,1982; THORÉN,1983). É possível que, em populações de nível sócio-econômico mais elevado dos países em desenvolvimento, as bactérias enteropatogênicas não tenham a mesma importância; contudo, não há pesquisas que confirmem esta hipótese.

Quanto à variação sazonal, a figura 2 relaciona a distribuição dos episódios em que se identificou bactérias ou vírus, nos meses do ano em estudo, com as médias mensais de temperatura. A comparação através de análise estatística demonstrou que a prevalência de episódios positivos para bactérias apresentou distribuição diferente de ocorrência nos meses do ano em relação à distribuição do total de episódios investigados; esta diferença provavelmente se deve ao fato de a prevalência das bactérias ter sido maior nos meses com temperaturas médias mais elevadas. Em relação aos episódios em que se identificou rotavírus, também foi observada distribuição estatisticamente diferente, que possivelmente se relaciona com o predomínio de isolamento viral nos meses mais frios. Este tipo de correlação não foi verificado com os episódios positivos para protozoários.

Nos países em desenvolvimento, onde a causa principal das enfermidades diarréicas são os agentes bacterianos (BLACK et alii, 1980; MATA et alii, 1983a; SIMHON, 1985), a ocorrência dos mesmos distribue-se por todo o ano, sendo maior a freqüência nos meses mais quentes quando a incidência de diarréia é maior (BLACK et alii, 1982; MAIDIN et alii, 1982; GUERRANT et alii, 1983; GEORGES et alii, 1984).

Nos países industrializados, os rotavírus são a causa de 50 a 70% dos casos de diarréia, em crianças, que requerem atenção médica. A máxima incidência ocorre no inverno (BIRCH et alii, 1977; MADELEY et alii, 1977; KONNO et alii, 1978; UHNOO & SVENSSON, 1986; AL-BWARDY et alii, 1988). Em geral, estes períodos de máxima incidência não coincidem com os casos de diarréia causados por bactérias (KAPIKIAN et alii, 1976; KOTLOFF et alii, 1989). Nas zonas temperadas raramente se detecta rotavírus durante os meses de verão. Ao contrário, nos países em desenvolvimento de clima tropical, a freqüência oscila entre 40 a 50% dos casos durante os meses de máxima incidência que geralmente são os mais frios; porém, a doença diarréica por rotavírus continua sendo endêmica durante o resto do ano (KONNO et alii, 1978; BLACK et alii, 1980; MATA et alii, 1983b; SIMHON & MATA, 1985). BREVIGLIERI et alii (1980) estudando crianças hospitalizadas com diarréia por rotavírus em São Paulo verificaram incidências semelhantes nas quatro

estações do ano, LINHARES et alii (1983) detectaram rotavírus durante todo o ano em Belém, Estado do Pará. Aparentemente, nos países onde a temperatura é constantemente elevada, há maior dificuldade em se estabelecer uma relação sazonal para a incidência deste agente (COOK et alii, 1990).

Desde sua identificação, em 1973 (BISHOP et alii, 1973), os rotavírus têm sido amplamente associados à etiologia da diarreia aguda entre crianças de todo o mundo, sendo encontrado como o agente mais freqüente em mais de 30 países (COOK et alii, 1990).

Nesta investigação, considerando isoladamente cada enteropatógeno, rotavírus foi o agente mais freqüente nas fezes de crianças com diarreia, identificado em 13,5% dos episódios investigados.

Entre os trabalhos nacionais que pesquisaram rotavírus nas fezes de crianças com diarreia aguda observaram-se incidências bastante distintas que variam desde 2,5 até 70% de positividade (BALDACCI et alii, 1979; BREVIGLIERI et alii, 1980; LINHARES et alii, 1983; OSMD et alii, 1983; FIORE et alii, 1986; SABRÁ et alii, 1987; PEREZ et alii, 1988; KITAGAWA et alii, 1989). Considerando apenas casuísticas referentes a pacientes ambulatoriais (KITAGAWA, 1984; RÁCZ et alii, 1988; RASSI, 1988), as freqüências apresentam-se semelhantes às desse estudo; TRABULSI et alii (1985a) encontrou em São Paulo 8,2% de positividade para este agente, TANUS et alii (1987) investigando 95 crianças com diarreia aguda em Brasília identificaram rotavírus em 8,4% dos casos, KITAGAWA (1984), também em São Paulo, verificou uma prevalência de 15,8% e uma pesquisa em Campinas, interior do estado de São Paulo, GATTI et alii (1989) observaram a mesma freqüência : 15,8%.

Nesta observação, entre os 39 episódios em que foi identificado o rotavírus, 7 (18%) correspondiam a crianças com idade inferior a 6 meses. Este dado é concordante com a literatura que relata menor número de casos nesta faixa etária (BANATVALA, CRYSTIE & TOTTERDELL, 1978; BISHOP et alii, 1979; BISHOP et alii, 1983; FLORES et alii, 1986) e alguns trabalhos encontraram entre crianças deste grupo

etário maiores porcentagens de portadores sem sintomas (CHAMPSAUR et alii,1984a; CHAMPSAUR et alii,1984b). Nos trabalhos nacionais em que há uma estratificação das idades (FRABULSI et alii,1985a; PEREZ et alii,1988; FAGUNDES Neto et alii,1989a; KITAGAWA et alii,1989) a maior freqüência foi observada entre os 6 e 18 meses.

Quando comparadas as prevalências em diferentes níveis sócio-econômicos (LINHARES et alii,1983; SABRÁ et alii, 1987), o rotavírus foi significativamente mais freqüente nos níveis mais altos de renda. Nesta investigação, a distribuição dos casos positivos para rotavírus não se mostrou diferente da distribuição do total de episódios investigados, com relação à renda mensal por pessoa.

Comparado aos demais agentes, rotavírus foi o enteropatógeno mais relacionado com desidratação, observada em 20% dos episódios. Metade destes pacientes apresentava desidratação de 2º grau e não houve casos de desidratação mais grave. Esta característica clínica tem sido encontrada por outros autores e é associada à maior freqüência de rotavírus nas fezes de crianças com diarréia de maior gravidade (BUTLER,1984; TRUJILLO et alii,1985; LINHARES et alii,1989). Em mais da metade dos pacientes (56%) foi referido febre, e a maioria dos pacientes portadores de rotavírus apresentaram vômitos (82%). Este quadro sintomático é concordante com os dados de literatura (BUTLER,1984; GEORGES et alii,1984).

Os adenovírus têm sido identificados em uma ampla variedade de doenças humanas e os adenovírus entéricos constituem um grupo distinto de adenovírus que estão sendo reconhecidos de maneira crescente como causa de diarréia aguda em crianças e lactentes (MADELEY,1986). Atualmente os adenovírus são considerados o segundo agente mais freqüente de diarréia após os rotavírus, em crianças, nas regiões de clima temperado (MOELLERING,1988). Nestes locais, os estudos epidemiológicos indicam que os adenovírus entéricos são responsáveis por 2 a 8% dos casos de diarréia na faixa etária pediátrica (BRANDT et alii,1983; SEN et alii,1984; UHNOO et alii,1984; BRANDT et alii,1985; BHAN et alii,1988). Nos países em desenvolvimento, os adenovírus foram

menos pesquisados, sendo que uma investigação na África do Sul encontrou taxa de prevalência de 6,5% (KIDD et alii,1986).

No presente estudo, os adenovírus entéricos encontram-se entre os agentes menos freqüentes, detectados pelo EIE em 1,0% dos episódios, taxa esta inferior à de relatos prévios no Brasil, onde estes agentes foram isolados com uma freqüência de aproximadamente 5% (AZEREDO et alii,1983; LEITE et alii,1985). Em investigação recente realizada em Belo Horizonte estes agentes foram pesquisados nas fezes de 152 crianças sendo encontrados em 4,6% das amostras (PEREZ et alii,1988). Tendo em vista a utilização de técnica de pesquisa semelhante neste e nos demais trabalhos brasileiros, acreditamos que as taxas diferentes talvez possam dever-se a diferenças regionais na ocorrência do agente.

Clinicamente, os adenovírus têm sido caracterizados por provocarem diarreia de intensidade moderada e de evolução mais lenta, quando comparada ao rotavírus (QUINN et alii,1986; KOTLOFF,1989), dado que parece associar-se às maiores incidências encontradas em pacientes ambulatoriais, quando comparados a pacientes internados (YOLKEN et alii,1982; BRANDT et alii,1985; BHAN et alii,1988). Neste estudo os adenovírus foram isolados em 3 episódios de diarreia, sendo que nestes episódios as evacuações foram descritas como volumosas e com mais de 8 eliminações por dia. Entre as casuísticas que estudaram o quadro clínico, sinais de desidratação ocorreram em muitos casos (KOTLOFF et alii,1989).

Mesmo nos países em que o clima é temperado e as estações bem definidas, as infecções por adenovírus não mostram a marcada flutuação sazonal característica das infecções por rotavírus, tendo sido encontradas durante todo o ano (BRANDT et alii,1983; BRANDT et alii,1985; MOELLERING,1988).

Nos estudos que se preocuparam com a estratificação das idades, os adenovírus foram encontrados mais freqüentemente entre crianças abaixo dos 2 anos de idade (BRANDT et alii,1985; RODRIGUEZ et alii,1985) entre estas a média de idade tem sido aos 7 meses (BRANDT

et alii,1985). Na presente observação , nos 3 episódios em que foi detectado adenovírus nas fezes, as crianças tinham 11 meses de idade.

A Escherichia coli enterotoxigênica é importante causa de diarreia em crianças nos países em desenvolvimento (WADSTROM et alii,1976; DONTA et alii,1977; SEN et alii,1984; ECHEVERRIA et alii,1985), é também o agente mais freqüente da "diarreia dos viajantes" (SACK et alii,1975; GORBACH et alii,1981). É um patógeno pouco freqüente na etiologia da diarreia aguda dos países desenvolvidos (QUINN et alii,1986).

Na presente casuística, a ETEC foi observada em 12,1% dos episódios investigados, ocupando o segundo lugar na ordem de freqüência, num percentual próximo ao encontrado para o agente mais freqüente, o rotavírus.

Entre os trabalhos nacionais mais recentes, destacamos as casuísticas de GUERRANT et alii (1983) que estudando crianças e adultos de uma vila rural no estado do Ceará, identificaram ETEC como o agente mais freqüente tendo ocorrido em 20,8% dos sujeitos com diarreia; TORRES (1984) estudou crianças de favelas paulistas e encontrou ETEC em 10,3% dos casos com diarreia; em Manaus, num estudo longitudinal conduzido em uma comunidade peri-urbana, E.coli toxigênica e Giardia lamblia foram os agentes mais freqüentemente encontrados (BERNARDI et alii,1986); outros autores (KITAGAWA et alii,1989) estudando crianças pertencentes a famílias de baixa renda, nas zonas periféricas da cidade de São Paulo, detectaram ETEC em 10,2% dos casos.

Comparando as figuras 6, 7, 8 e 9, que mostram as freqüências de 4 agentes de acordo com as faixas etárias, observa-se que a distribuição dos episódios positivos para E.coli toxigênica concentra-se entre crianças acima dos 12 meses de idade. Os dados de literatura apontam para uma maior freqüência deste agente entre crianças maiores de 1 ano de vida (TRABULSI et alii,1985b; RASSI,1988; KITAGAWA et alii,1989).

Entre as 54 cepas de ETEC isoladas, 17 (32,6%) ocorreram em associações com outros patógenos: em 9 episódios a associação deu-se com um agente bacteriano, em 5 casos com a Giardia lamblia e em 3 casos com rotavírus

Com relação à produção de enterotoxinas, considerando tanto as amostras detectadas isoladamente quanto aquelas em associação, o fenótipo mais freqüente foi LT (66,7%), cepas STa ocorreram em 20,4% dos episódios e 7 amostras produtoras de ambas toxinas (13%) foram identificadas. Em 32 amostras de ETEC, pesquisaram-se os fatores de colonização (antígenos CFA/I, CFA/II, e CFA/IV); que não foram identificados em nenhuma delas. REIS et alii, (1982) pesquisaram a produção de toxinas e a presença de fatores de colonização em ETEC isoladas nas fezes de crianças com diarreia e em controles, encontrando 13,4% de positividade entre as primeiras e 11,4% nas assintomáticas; CFA/I e CFA/II foram detectados em 10 (45%) das 24 cepas STa e LT+STa, nenhuma das cepas LT possuía fímbrias de aderência. Outros estudos nacionais que investigaram a freqüência dos diferentes fenótipos nas amostras de ETEC (MAGALHÃES, ANDRADE & CARVALHO, 1981; QUEIRÓZ & MENDEZ, 1985; RASSI, 1988; KITAGAWA et alii, 1989), cepas STa e LT+STa foram isoladas apenas de crianças com diarreia, enquanto que cepas LT foram também encontradas em crianças assintomáticas. GATTI et alii (1989), investigando amostras fecais de crianças com diarreia aguda em Campinas, interior de São Paulo, encontraram ETEC em 20,4% dos casos; destes, apenas uma cepa em 24 amostras era produtora de enterotoxina STa, enquanto que as restantes produziram exclusivamente LT. Alguns pesquisadores observaram ocorrência do fenótipo LT em porcentagem muito semelhante entre indivíduos com diarreia e assintomáticos (KITAGAWA et alii, 1989). Estes achados poderiam diminuir a importância da produção da toxina LT como fator de virulência das ETEC, em relação ao observado na presente investigação.

Entre os sinais e sintomas referidos nos episódios em que foi identificado ETEC, encontramos febre em 50%, vômitos em 54% e apenas um paciente, nos 35 episódios com ETEC como agente único, apresentou sinais de desidratação compatível com perdas leves. Em nenhum caso foi

relatado presença de sangue nas fezes. Sinais de desidratação têm sido um encontro comum nos casos de diarreia por ETEC (NALIN et alii, 1975), característica que, provavelmente, associa-se ao mecanismo de virulência destas bactérias, que culmina com a produção de distúrbios hidroeletrólíticos importantes.

Escherichia coli enteropatogênica clássica é um agente que nos países desenvolvidos associa-se quase sempre a surtos hospitalares de diarreia aguda em recém nascidos e em crianças maiores (ELLIS et alii, 1984; WATSON et alii, 1986), e nos países em desenvolvimento é causa freqüente de diarreia em crianças (MOYENUDDIN, RAHMAN & SACK 1987; GEORGES et alii, 1984;). No Brasil, são inúmeros os trabalhos cuja casuística aponta estes sorogrupos enteropatogênicos como os mais freqüentes agentes identificados nas fezes de crianças com diarreia, particularmente no primeiro ano de vida (KITAGAWA, 1984; TRABULSI et alii, 1985b; TEIXEIRA et alii, 1987; RASSI, 1988; FAGUNDES Neto et alii, 1989a).

Na presente pesquisa, EPEC foi identificada como agente único em 7,0% dos episódios investigados constituindo-se no quarto agente mais comum, após o rotavírus, ETEC e as associações de agentes. Menores prevalências foram observadas por GUERRANT et alii (1983) numa comunidade rural do interior do Nordeste, onde estes autores encontraram EPEC em 4,6% dos casos e por TORRES (1984) que as identificou em 3,7% das crianças estudadas. Em publicação recente, TRABULSI et alii (1985a) relatam, em crianças menores de um mês de idade, predomínio estatisticamente significativo de portadores de EPEC entre aqueles que nasceram de partos hospitalares, em relação aos nascidos no domicílio. Esta evidência associada a outros dados como o isolamento de sorogrupos mais freqüentemente associados à diarreia de ambientes hospitalares e o padrão de antibiograma caracterizado por ampla resistência, sugerem que a diarreia endêmica por EPEC, em São Paulo, associa-se a infecções hospitalares (PESSOA et alii, 1978; TRABULSI et alii, 1985b). Estas relações poderiam explicar sua menor prevalência em populações cujo contato com hospitais é menos freqüente.

Com relação à distribuição nas faixas etárias, contrariamente a dados que mostram o predomínio deste grupo de E.coli como enteropatógeno prevalente em lactentes abaixo dos 6 meses de vida (TOLEDO et alii, 1983; RASSI, 1988), nesta observação amostras positivas para EPEC foram menos freqüentes que para rotavírus e tiveram prevalência semelhante à de ETEC neste grupo etário.

Alguns pesquisadores observaram maior ocorrência de EPEC nos períodos mais quentes do ano (GUERRANT et alii, 1983). Esta tendência não foi observada neste estudo quando se comparou estatisticamente a distribuição durante o ano do total de amostras investigadas com a distribuição das amostras em que este agente foi detectado. Os episódios positivos para EPEC durante o ano da pesquisa não apresentaram predomínio de ocorrência quando comparados ao número total de episódios investigados.

E.coli enteropatogênicas são relatadas na literatura como agentes que muito freqüentemente causam diarreia grave e desidratação (GEORGES et alii, 1984; GARCIA, REIS & FAGUNDES Neto, 1989). Nesta casuística apenas um paciente, entre os 20 episódios em que foi identificado o agente, apresentava sinais de desidratação, o que pode estar associado à procura precoce do serviço médico e à eficiência da atenção primária no município.

Na presente pesquisa, as amostras de EPEC isoladas apresentaram altas porcentagens de resistência à ampicilina e à carbenicilina. A metade das amostras mostrou-se sensível à sulfa e altas taxas de sensibilidade aos demais antimicrobianos. TORRES (1984) encontrou percentuais semelhantes de sensibilidade aos deste estudo à gentamicina, à amicacina e ao cloranfenicol, mas 50% das cepas foram resistentes às cefalosporinas enquanto que na casuística aqui relatada encontrou-se a grande maioria das cepas sensíveis a este grupo de antibióticos, possivelmente porque no presente trabalho as cefalosporinas utilizadas foram de 2ª e 3ª geração enquanto que no estudo de TORRES utilizou-se a cefalotina. Padrão semelhante ao de TORRES foi encontrado por QUEIRÓZ et alii (1985) estudando crianças com diarreia aguda em Belo Horizonte, a saber, a maioria das EPEC

foram sensíveis à amicacina , à gentamicina e ao colistin, a sensibilidade à cefalotina também foi baixa. KITAGAWA (1984), na cidade de São Paulo, estudando amostras provenientes de crianças atendidas em ambulatórios, encontrou altas porcentagens de resistência à sulfa, ampicilina e aos aminoglicosídeos.

Dentro do grupo de E.coli, as cepas invasoras caracterizam-se por invasão da mucosa intestinal causando disenteria (LEVINE,1987). As infecções intestinais provocadas pela Escherichia coli enteroinvasora são mais comuns nas crianças com mais de dois anos e em adultos (FAGUNDES Neto,1983a).

Neste trabalho, EIEC foi um agente muito pouco freqüente, identificado em apenas duas crianças (0,7%). Referências nacionais relatam diferentes prevalências deste patógeno, com taxas que variam entre 0,4 a 7,5%, os maiores índices são encontrados nas crianças acima de um ano de idade (KITAGAWA,1984; GIUGLIANO & GIUGLIANO,1985; TRABULSI et alii,1985a; TRABULSI et alii,1985b), chamando a atenção as porcentagens de 15% obtida por TORRES (1984) em crianças de baixo nível sócio-econômico, em São Paulo e de 10% encontrada por GUERRANT et alii (1983) também estudando população de condições higiênicas bastante precárias, no Nordeste do país. É possível que a infraestrutura sanitária da população estudada na presente investigação, de melhor qualidade que aquela apresentada pelas populações destes dois estudos, seja um fator associado à menor freqüência de EIEC.

Com relação às bactérias do gênero Shigella, sabe-se que são importantes como agentes da diarreia aguda em todo o mundo (MOELLERING,1988). São altamente transmissíveis e a patogenicidade está associada à produção de toxinas e à capacidade de invasão do epitélio intestinal (MOELLERING,1988). Nos países desenvolvidos Shigella sp é um agente freqüente da "diarreia dos viajantes" e ocorre também em surtos esporádicos de diarreia (QUINN et alii,1986). Nos países em desenvolvimento é um agente bastante freqüente, particularmente quando pesquisado em populações de baixa renda (ADKINS et alii,1987; OSISANYA et alii,1988).

Nesta casuística, Shigella sp foi isolada em 5,2% dos episódios em que foi detectada como um agente único, porcentagem inferior à observada em publicações nacionais (PESSOA et alii, 1978; GUERRANT et alii, 1983; TOLEDO et alii, 1983; TORRES, 1984; TRABULSI et alii, 1985b; KITAGAWA et alii, 1989). Além disso, em outras investigações em nosso meio, esta bactéria foi identificada com freqüências bem maiores, a saber: 41,6% entre crianças acima de dois anos hospitalizadas em São Paulo (FAGUNDES Neto et alii, 1989a), 20 a 33,3% no Distrito Federal (BREVIGLIERI et alii, 1980), 21% em Manaus entre crianças atendidas em ambulatorios (GIUGLIANO et alii, 1985) e 15,6% no município de Botucatu, interior de São Paulo (MONTELLI & TRABULSI, 1970)

Infecções por Shigella sp têm sido mais prevalentes em crianças acima dos 6 meses de vida (GEORGES et alii, 1984; KITAGAWA, 1984). Nesta observação Shigella sp foi o agente menos prevalente em crianças abaixo de 1 ano. TORRES (1984), estudando crianças em uma favela paulista, encontrou uma distribuição diferente: maior número de casos nos lactentes menores de 12 meses. Fato semelhante foi observado por PESSOA et alii (1978), que o associou aos altos níveis de contaminação ambiental, característicos de populações mais pobres.

No presente trabalho, entre os episódios investigados, não se encontrou distribuição de renda diferente naqueles positivos para Shigella sp, quando comparados com o total de casos investigados.

Alguns autores encontraram maior freqüência desta bactéria nos meses de verão (PICKERING et alii, 1978; KITAGAWA, 1984; TORRES, 1984). Nesta observação a distribuição sazonal acompanhou o predomínio das bactérias nos meses mais quentes (janeiro a março de 1988).

Quanto ao quadro clínico, observou-se ocorrência elevada de febre (86%) e a maior freqüência de fezes com sangue (40%), quando comparado com os demais patógenos, características clínicas encontradas também em outras casuísticas (RASSI, 1988).

Entre as quatro espécies de Shigella pesquisadas apenas duas foram isoladas: S. flexneri e S. sonnei. Os casos de Shigella de

ocorrência mundial têm mostrado maior freqüência de isolamento da espécie S. flexneri nos países em desenvolvimento, enquanto S. sonnei é mais freqüente nos industrializados (BLACK et alii, 1982; BLASER et alii, 1983; CASALINO et alii, 1988; OSISANYA et alii, 1988). Na literatura nacional diferentes estudos apresentam maior prevalência da S. flexneri (PESSOA et alii, 1978; KITAGAWA, 1984; TORRES, 1984; TRABULSI et alii, 1985a; TRABULSI et alii, 1985b). Num estudo no interior do Estado de São Paulo a investigação de crianças e adultos demonstrou porcentagens semelhantes destas duas espécies (MONTELLI et alii, 1970). Na presente casuística o comportamento das espécies de Shigella foi similar ao encontrado nos países desenvolvidos, o que poderia decorrer das condições favoráveis de saneamento observadas na população estudada.

Nesta investigação as bactérias do gênero Shigella mostraram-se bastante sensíveis à maioria dos antimicrobianos mas, para sulfa, ampicilina e carbenicilina as taxas de resistência foram altas. Padrão semelhante foi encontrado por TORRES (1984) em amostras de fezes de crianças de favela, em São Paulo. Altas porcentagens de resistência à sulfa também foram encontradas por outros autores em nosso meio (TRABULSI, 1981; KITAGAWA, 1984)

Nesta pesquisa não foram identificadas, apesar de pesquisadas, bactérias da espécie Yersinia enterocolitica e dos gêneros Salmonella e Campylobacter.

A Yersinia enterocolitica associa-se a um quadro de enterocolite caracterizada por febre e diarreia, na maioria das vezes com sangue, e de ocorrência mais freqüente em pré-escolares (QUINN et alii, 1986). Nos países de clima tropical sua freqüência é baixa (TRABULSI et alii, 1985a; TRUJILLO et alii, 1985), podendo este fato ser explicado pela melhor adaptação da bactéria a temperaturas inferiores. Nos Estados Unidos tem-se descrito surtos de diarreia por este agente enteropatogênico cuja freqüência parece estar aumentando a cada ano (SHAYEGANI et alii, 1983).

No Brasil, a Yersinia sp tem sido encontrada em várias espécies de animais e em alimentos (FALCÃO,1981). Foi isolada pela primeira vez, em humanos, por STUMPF et alii (1978) em 4 de 70 crianças com diarreia aguda, na cidade do Rio de Janeiro, e desde então, outras investigações ou não isolaram este agente (TRABULSI et alii,1985b; QUEIRÓZ et alii,1987; RASSI,1988) ou o identificaram com frequência não superior a 1% (KITAGAWA,1984; TORRES,1984; TANUS et alii,1987).

O gênero Salmonella compreende cerca de 2000 tipos sorológicos, caracterizados por antígenos somáticos e flagelares. Alguns desses sorotipos determinam doença sistêmica: Salmonella typhi (agente da febre tifóide) e Salmonella paratyphi A, Salmonella paratyphi B, Salmonella paratyphi C (agentes das febres paratifóides); os demais causam diarreia aguda inespecífica, sendo que entre estes os dois mais comuns são S. typhimurium, S. anatum, S. enteritidis, S. choleraesuis e S. agona. Este segundo grupo de bactérias causa diarreia autolimitada no adulto normal, mas nas crianças frequentemente invade a circulação colonizando outros órgãos (FAGUNDES Neto,1983a; TRABULSI,1989).

A Salmonella sp encontra-se disseminada por todo mundo (MATA et alii,1983a; SOENARTO et alii,1983; ADKINS et alii,1987; AL-BUARDY et alii, 1988; OSISANYA et alii,1988) e nos países em desenvolvimento assume grande importância pela frequência e gravidade das infecções hospitalares (TRABULSI et alii,1985a). No nosso meio, a diarreia aguda por Salmonella sp é uma doença endêmica em algumas comunidades (CEBALLOS,1984).

Em trabalho realizado no interior de São Paulo (MONTELLI et alii,1970) a positividade foi baixa (1,2%) e em estudos no Nordeste do país (GUERRANT et alii,1983) estas bactérias não foram isoladas. Por outro lado, as casuísticas dos centros urbanos, particularmente na cidade de São Paulo, mostram uma prevalência entre 6,5 a 10% (TRABULSI et alii,1985b; BERNARDI et alii,1986; QUEIRÓZ et alii,1987). A epidemiologia da Salmonella sp em nosso meio, mostra também um predomínio de cepas multiresistentes, mais comumente nos grandes centros (RILEY et alii,1984; TORRES,1984) enquanto as bactérias

isoladas em centros menores são mais sensíveis aos antibióticos empregados no controle das infecções (KITAGAWA et alii, 1989). É possível que a ausência de isolamentos, neste estudo, esteja associada ao menor contato das crianças com o ambiente hospitalar.

Os primeiros isolamentos do gênero Campylobacter, a partir de amostras fecais, ocorreram no início dos anos 70. Desde então, estes microrganismos têm despertado grande interesse por sua capacidade de provocar diarreia aguda no homem. Os processos infecciosos em humanos são determinados por 2 espécies: C. intestinalis e C. jejuni. Na infecção do aparelho digestivo pelo gênero Campylobacter, estas duas espécies podem ser responsabilizadas, porém mais de 90% são causadas pelo C. jejuni (TRABULSI, 1989). O mecanismo de ação decorre da capacidade invasora do epitélio intestinal (ESREY et alii, 1988).

Nos países industrializados, a frequência deste agente em pacientes com diarreia esta entre 3,2 a 13,9% e em pessoas saudias varia de 0 a 1,3% (apud FERNANDEZ et alii, 1984).

Entre as pesquisas realizadas em nosso meio FERNANDEZ et alii (1984) observaram uma frequência relativamente maior (9,0%) nas crianças saudias que nas doentes (6,0%), TORRES (1984) isolou o agente nas frequências de 12,1 e 8,1% entre crianças com diarreia aguda e controles; KITAGAWA (1984) identificou 4,8% entre os doentes e 7,4% entre assintomáticos; RASSI (1988) estudando crianças no primeiro ano de vida encontrou porcentagens de 1,4% e 1,2%, respectivamente, entre casos e controles, finalmente, KITAGAWA et alii (1989) encontraram porcentagens próximas de 6% em portadores sãos e diarreicos. Estes estudos foram realizados na cidade de São Paulo. Em outros países de condições sócio-econômicas semelhantes (OLARTE & PEREZ, 1983; ESREY et alii, 1988), altas taxas de C. jejuni são encontradas em grupos controle sem diarreia. Esta distribuição é um aspecto que torna difícil avaliar o seu papel na origem da diarreia aguda da criança. Acredita-se que em condições higiênicas insatisfatórias ocorreria maior exposição ao agente e conseqüente desenvolvimento de imunidade, aumentando a frequência de portadores sãos (FERNANDEZ et alii, 1984). Estudo dos fatores de virulência presentes nas cepas de pacientes

assintomáticos são necessários para aclarar este aspecto epidemilógico.

Nesta pesquisa não se identificou cepas de Campylobacter sp. Este dado difere dos trabalhos citados acima e de outros, como os de TRABULSI et alii (1985a) que encontraram porcentagens de 6,2% e, ainda, de estudos no Nordeste do país (GUERRANT et alii, 1983). Esta diferença faz considerar a necessidade de reavaliar a ocorrência desta bactéria em estudos futuros.

Na grande maioria dos trabalhos sobre a etiologia da diarreia aguda apenas os agentes bacterianos e virais são pesquisados sendo que os enteroparasitas não são referidos como determinantes desta afecção. Entretanto, as parasitoses intestinais apresentam elevada endemicidade em nosso meio (FERREIRA & FIGUEIRA, 1981) e por essa razão o seu papel na doença diarreica deve ser investigado.

Os parasitas intestinais são encontrados nas fezes de crianças com diarreia aguda em todo o mundo, sendo mais frequentes nos países pobres, enquanto que nos países desenvolvidos a prevalência é baixa (SOENARTO et alii, 1983; ARAYA et alii, 1985; STANTON et alii, 1989; TABOADA et alii, 1989).

Diarreia é um sintoma comum na infestação por Strongyloides stercoralis, Trichuris trichiura, Entamoeba histolytica e Giardia lamblia. Todos são encontrados ocasionalmente na criança com diarreia aguda em nosso meio (MC LEAN et alii, 1982; ALVES & FERREIRA, 1984) e, algumas vezes, em infecções mistas com outros patógenos entéricos (GUERRANT et alii, 1983; BERNARDI et alii, 1986).

Mais especificamente, com relação à contribuição dos protozoários intestinais, na totalidade das diarreias agudas, as taxas de frequência na América Latina permitiram à MATA (1986) identificá-los como um importante problema de saúde pública. Segundo este autor, o número esperado de diarreia por protozoários na América Latina, em 1976, deve ter sido por volta de 20 milhões de casos por Giardia lamblia, 5 milhões de casos por Cryptosporidium spp e 4 a 12 milhões

de casos por Entamoeba histolytica, o que é, no entanto, menor que a frequência esperada de diarreias por bactérias e rotavírus.

A Giardia lamblia é um protozoário flagelado cuja infecção ocorre pela ingestão de cistos em alimentos contaminados (OSTERHOLM et alii, 1981) e água (DYKES et alii, 1980), transmissão por contato direto entre pessoas ocorre entre crianças (KEYSTONE et alii, 1978) e homossexuais (PHILLIPS et alii, 1981).

Calcula-se que a infecção por Giardia lamblia ocorra em 5 a 50% dos residentes em países em desenvolvimento e em 1 a 7% dos indivíduos que moram em áreas industrializadas (DuPONT & SULLIVAN, 1986). Os estudos em países em desenvolvimento relatam frequências relativamente altas do parasita nas fezes de crianças com diarreia, com porcentagens que variam entre 8 a 34% (GIUGLIANO et alii, 1985; SIMANGO et alii, 1987; CASALINO et alii, 1988; STANTON et alii, 1989). Em alguns relatos a frequência entre crianças com diarreia e assintomáticas é bastante semelhante (BURKE et alii, 1983; SIMANGO et alii 1987). No nosso meio, GUERRANT et alii (1983) encontraram uma frequência de infestação por G. lamblia de 6,7% entre crianças com diarreia aguda, numa comunidade do Nordeste; GIUGLIANO et alii (1985) investigaram este e outros agentes da diarreia aguda em crianças na comunidade e em ambulatórios, detectando percentuais de positividade de 9 e 10% respectivamente; estas investigações incluíram a pesquisa de agentes bacterianos e virais e visaram crianças de comunidade rural no Nordeste (GUERRANT et alii) e periurbana de Manaus (GIUGLIANO et alii). A frequência de G. lamblia entre os episódios diarreicos que foram investigados neste estudo (6,2%) é semelhante à encontrada no Nordeste e pouco inferior à casuística de Manaus.

A infecção pelo protozoário Entamoeba histolytica tem uma distribuição universal (WHO, 1969). Embora freqüentemente encontrada em países tropicais, também ocorre em países desenvolvidos onde é uma das etiologias da "diarreia dos viajantes" e é prevalente entre homossexuais (TANOWITZ, WEISS & WITTNER, 1988).

Este parasita comumente habita o lúmen do intestino grosso, mas é capaz de invadir a parede intestinal e causar focos metastáticos de infecção em outros órgãos, mais freqüentemente no fígado (TANOWITZ et alii,1988).

Nos países onde a infecção pela E.histolytica é um importante problema de saúde a maioria dos indivíduos contaminados, (aproximadamente 90%), são portadores do parasita, enquanto os demais apresentam amebíase intestinal do tipo invasiva (WHO,1981; CARRADA-BRAVO,1989). Esta última condição é usualmente caracterizada clinicamente tanto por disenteria amebiana aguda, com sangue e muco nas fezes, como por diarréia intermitente, muitas vezes com fezes sanguinolentas (OPAS,1987).

A transmissão da E. histolytica esta diretamente ligada à higiene e ao saneamento. A exposição é freqüente entre pessoas residentes em países em desenvolvimento. Entre as regiões mais endêmicas (onde até 50% da população é portadora) estão México, América do Sul, Índia, África Ocidental e África do Sul (MOELLERING,1988). Entre crianças hospitalizadas nas Filipinas, E.histolytica foi identificada em 0,1% dos pacientes (ADKINS et alii,1987), no Chile, entre 156 lactentes, de 1 mês a 2 anos de idade, internados com diarréia e desidratação,E. histolytica foi isolada em 2,6% dos casos (MUÑOZ et alii,1987). No Brasil numa investigação envolvendo uma comunidade pobre do Nordeste (GUERRANT et alii,1983), foi observado que 3 entre 150 crianças menores de 5 anos, com diarréia aguda, apresentaram pesquisa positiva de cistos nas fezes. Em Recife (ALVES et alii,1984), entre 600 crianças menores de 1 ano, 146 com diarréia e 454 assintomáticas, este agente não foi detectado entre as doentes e em apenas dois casos foram isolados entre as crianças sem diarréia. Na presente observação foram encontrados cistos de E. histolytica em 6 dos episódios em que foi feita a pesquisa (2,0%), porcentagem próxima à obtida nos estudos referidos acima. Todos os episódios corresponderam a pacientes com idade superior a 24 meses. A prevalência de E.histolytica aumenta a partir do final do primeiro ano e através do 2º. e 3º. anos de vida (MATA,1986), fazem exceções comunidades muito pobres, com condições de

higiene muito precárias, em que o parasita pode ser encontrado em crianças muito jovens (GEORGES et alii, 1984).

O Cryptosporidium é um protozoário parasita que pertence ao filo Apicomplexa, classe Sporozoa, subclasse Coccidia, ordem Eucoccidiida, subordem Eimeriina (TZIPORI, 1983). Este protozoário completa seu ciclo de vida na mucosa intestinal de mamíferos, aves e répteis (O'DONOGHUE, 1985).

O primeiro caso de criptosporidíase em humanos foi publicado em 1976 e tratava-se de uma menina de 3 anos e meio de idade, com um quadro grave de diarreia, e em que foram detectados parasitos na biópsia retal (NIME et alii, 1976). Desde então, com a possibilidade de diagnóstico pelo encontro de oocistos nas fezes, a partir de 1978 (POHLENZ et alii, 1978), muitos relatos têm confirmado que Cryptosporidium é um agente de diarreia aguda autolimitada em número considerável de pacientes imunocompetentes (HUNT et alii, 1984; MATA et alii, 1984; MONTESSORI & BISCHOFF, 1985; RATNAM et alii, 1985; HØJLYNG, MØLBAK & JEPSEN, 1986; BUSTELO et alii, 1989; TOCA et alii, 1989) e pode ser uma causa de diarreia aguda prolongada, associada a síndrome de má absorção, em pacientes com comprometimento do sistema imune (PITLIK et alii, 1983). O coccídeo distribue-se por todo o mundo (BOGAERTS et alii, 1984; PEREZ-SCHAEL et alii, 1985; ATTERHOLM et alii, 1987; CORBETT-FEENEY, 1987; CRUZ et alii, 1988; SUBRAMANYAN et alii, 1989), mas a prevalência da infecção, no entanto, parece ser maior nos países em desenvolvimento que nos países desenvolvidos, nos climas tropicais que nas zonas temperadas e em favelas periurbanas que em zona rural (JOKIPII et alii, 1983; HART et alii, 1984; HOLTEN-ANDERSON et alii, 1984; MATA et alii, 1984; SHAHID et alii, 1985).

Na epidemiologia deste agente a constatação da sua característica zoonótica é bem documentada (TZIPORI, 1985). Por outro lado, estudos mais atuais atestam, de maneira cada vez mais freqüente, à favor da transmissão por contato entre humanos (KOCH et alii, 1985). Em países desenvolvidos, a persistência de portadores assintomáticos entre crianças saudáveis não parece ser comum, embora, em ambientes

fechados, portadores são têm sido detectados durante surtos agudos nas crianças de berçários e creches (ALPERT et alii, 1986). Em países em desenvolvimento, no entanto, a prevalência de portadores são, especialmente crianças, pode ser mais comum (HUNT et alii, 1984; MATHAN et alii, 1985).

No Brasil, ainda são poucos os trabalhos sobre a prevalência do protozoário em crianças com diarreia, e, na maioria deles, a casuística é pequena (SOARES et alii, 1987; GRACIA et alii, 1988; SOARES et alii, 1988). Destacam-se os trabalhos de LOUREIRO et alii (1986), em Belém, que estudando 61 crianças com idade entre 1 e 2 anos, seguidas por nove meses, observaram 3 casos positivos em 94 amostras de fezes diarreicas, enquanto que em 54 amostras de controles o parasita não foi detectado; na casuística de WEIKEL et alii (1985), no Ceará, em 139 amostras de fezes provenientes de 117 pacientes com diarreia e 22 controles, foram detectados 9 casos positivos entre os primeiros e nenhum entre os controles; ALVES et alii (1989), pesquisando a frequência de criptosporidiose em 90 crianças com desnutrição grave, com e sem diarreia, observaram o parasita em 15,5% das amostras fecais; por outro lado, considerando apenas os pacientes sintomáticos, a porcentagem de positividade foi de 21,3%.

Na presente casuística o Cryptosporidium spp foi isolado em apenas um paciente, com 13 meses de idade e apresentando quadro de diarreia com duração de 3 dias. Com relação a este parasita são necessárias mais investigações que possibilitem a comparação de dados no nosso meio.

A presença de dois ou mais agentes enteropatogênicos nas fezes de pacientes com diarreia aguda é uma ocorrência frequente nos países em desenvolvimento (PICKERING et alii, 1978; SEN et alii, 1983; SOENARTO et alii, 1983; BERNARDI et alii, 1986; FIORE et alii, 1986). Este aspecto peculiar dificulta a interpretação da etiologia e mesmo da patogênese da diarreia aguda (TRABULSI et alii, 1985b). Entre as casuísticas nacionais, as frequências de infecções mistas variam de 5 a 36% (BREVIGLIERI et alii, 1980; GUERRANT et alii, 1983; TANUS et alii, 1987; REIS et alii, 1988; FAGUNDES Neto et alii, 1989a; KITAGAWA et

alii,1989). Na presente observação associação de agentes foi encontrada em 11,1% dos episódios pesquisados, em 7,3% ocorreu entre duas bactérias ou uma bactéria e o rotavírus e a associação entre um microrganismo e um parasita foi encontrada em 3,8% dos episódios. Comparando a associação entre agentes infecciosos (bactérias e vírus) os presentes dados apresentam frequências inferiores em relação aos trabalhos de TRABULSI et alii (1985b), em São Paulo, que encontraram em população da periferia da capital valores de 15,2% e de 25%, de GUERRANT et alii (1983) que observaram índices semelhantes aos de TRABULSI et alii e de BREVIGLIERI et alii (1980) entre crianças hospitalizadas, em São Paulo, em que a associação de bactérias e vírus foi identificada em 13,6% dos casos.

A análise estatística dos dados obtidos nesta pesquisa não demonstrou, para os episódios em que foi encontrada associação de agentes, distribuição significativamente diferente da população total investigada com relação aos itens renda mensal e infraestrutura sanitária, o que não permitiu associar esta patologia a piores condições de higiene.

Entre os 32 episódios em que se identificou dois agentes, houve uma distribuição de ocorrência homogênea durante o ano de pesquisa, não sendo caracterizado predomínio sazonal. Neste estudo também não foram observadas diferenças na distribuição destes episódios com relação às faixas etárias; no entanto, nos dados de FAGUNDES Neto et alii (1989a), a associação de agentes foi duas vezes mais frequente entre crianças de 0 a 6 meses quando comparadas a crianças de 6 a 12 e de 12 a 24 meses, de uma população hospitalizada.

Quanto aos sinais e sintomas constatou-se a informação de febre e de vômitos em 50% dos episódios, sendo que apenas um paciente apresentou sinais clínicos de desidratação de 2º. grau. Não houve uma manifestação clínica que caracterizasse os pacientes com mais de um enteropatógeno isolado nas fezes.

Para finalizar pode-se dizer que no conjunto dos resultados a análise das amostras de fezes na população estudada demonstrou, em

alguns aspectos, características diferentes da maioria das casuísticas nacionais, entre eles, o predomínio de ETEC sobre os demais agentes bacterianos, o predomínio da espécie Shigella sonnei entre as espécies deste gênero, uma menor frequência de bactérias encontradas mais comumente em outras casuísticas como EPEC e Salmonella sp e, finalmente, a elevada taxa de sensibilidade aos antimicrobianos.

Estas características estimulam o interesse para estudos mais amplos neste tipo de população, incluindo pacientes assintomáticos e a pesquisa de outros agentes como o vírus Norwalk e outros vírus, a reinvestigação de Campylobacter sp, a identificação de outras E.coli produtoras de diarreia, Aeromonas sp, Plesiomonas sp, Clostridium difficile e Vibrio parahemolyticus e, ainda, envolvendo outras metodologias que permitam avaliar a incidência e possível etiologia da diarreia aguda corroborando com investigações imunológicas que permitam minimizar as repercussões desta síndrome.

CONCLUSÕES

Do estudo de 288 episódios de diarreia aguda em 282 crianças, no período de outubro de 1987 a setembro de 1988 podemos chegar às seguintes conclusões:

1. Foram identificados agentes enteropatogênicos em 59,4% dos episódios estudados.

2. Os agentes bacterianos foram os mais freqüentemente identificados, sendo que os virais corresponderam, em números, a pouco mais da metade dos casos com identificação positiva para bactérias. Os episódios em que foram identificados parasitas ocuparam o terceiro lugar após as bactérias e os vírus.

3. Os episódios em que foram identificadas bactérias foram significativamente mais freqüentes nos meses em que a temperatura média foi mais alta, e aqueles com identificação positiva para rotavírus ocorreram com maior freqüência nos períodos cujas temperaturas médias foram inferiores.

4. O enteropatógeno mais comumente identificado foi o rotavírus (13,5%) e, em segundo lugar, ETEC (12,1%).

5. As associações de dois agentes foram mais freqüentes (11,1%) que a maioria dos agentes identificados isoladamente, sendo apenas menos comuns que o rotavírus e ETEC.

6. Entre os fenótipos de ETEC, a saber, LT, STa e LT+STa, o mais freqüente foi o LT (67%). Não foram encontrados os fatores de colonização investigados, CFA/I, CFA/II e CFA/IV.

7. EPEC, considerado o agente mais freqüente na maioria das casuísticas nacionais, foi o quarto agente mais comum (7,0%).

8. Salmonella sp, agente amplamente difundido em nosso meio, sobretudo em ambiente hospitalar, não foi identificado na população estudada.

9. Entre as espécies de Shigella sp identificadas, a Shigella sonnei foi a mais freqüente (73%), seguida de S. flexneri (27%). Não foram isoladas amostras de S. dysenteriae e de S. boydii.

10. Oitenta por cento das amostras de Shigella sp apresentaram resistência à ampicilina e ao sulfametoxazol, 58% foram resistentes à carbenicilina, 25% ao cloranfenicol, quanto aos aminoglicosídeos e às cefalosporinas de segunda e terceira gerações a porcentagem de resistência foi sempre inferior a 15%.

11. Cerca de 80% das cepas de EPEC revelaram-se resistentes à ampicilina e à carbenicilina, a porcentagem de resistência ao sulfametoxazol foi de 44% e, em relação aos demais antimicrobianos o percentual não foi superior a 12%.

12. Entre os pacientes que freqüentavam creches, encontrou-se um padrão semelhante de ocorrência dos enteropatógenos em relação ao total de episódios investigados.

RESUMO

No período de um ano foram atendidos 490 episódios de diarreia aguda, correspondentes a 445 crianças que procuraram os serviços do Centro de Saúde Escola de Paulínia e do Pronto Socorro do Hospital Municipal de Paulínia. Em cada episódio foi preenchida uma ficha com dados clínicos e epidemiológicos do paciente. Em 288 episódios foram colhidas amostras de fezes, provenientes de 282 crianças, para pesquisa de enteropatógenos.

Foram pesquisados os seguintes agentes enteropatogênicos: rotavírus, adenovírus, ETEC, EPEC, EIEC, Shigella sp, Salmonella sp, Yersinia sp, Campylobacter sp, Giardia lamblia, Entamoeba histolytica e Cryptosporidium spp.

A identificação foi positiva em 59,4% dos episódios, sendo que os agentes bacterianos foram os mais frequentes, vindo em segundo lugar os enteropatógenos virais e, por último, os parasitários.

Bactérias foram mais comuns nos meses de verão e os rotavírus nos meses mais frios.

O agente isoladamente mais comum foi o rotavírus, encontrado em 13,5% dos episódios.

Escherichia coli enterotoxigênica foi o segundo patógeno em frequência, identificado em 12,1% das amostras. Entre os fenótipos pesquisados as cepas mais comuns foram as produtoras de toxina LT. Não houve identificação dos fatores de colonização em nenhuma amostra em que foi realizada a pesquisa.

Associação de agentes ocorreu em 11,1% dos episódios.

Escherichia coli enteropatogênica foi identificada em 7,0% dos episódios e com frequência semelhante identificou-se a Giardia lamblia.

Bactérias do gênero Shigella sp foram identificadas em 5,2% das amostras e a espécie S. sonnei foi expressivamente mais comum.

E. histolytica foi identificada em 2,0% dos episódios e adenovírus em 1,0%.

EIEC e Cryptosporidium spp ocorreram, respectivamente, em 0,7 e em 0,3% dos casos.

Não foram identificadas bactérias dos gêneros Campylobacter sp, Salmonella sp e Yersinia sp.

Houve uma tendência de Escherichia coli enterotoxigênica e de Shigella sp para ocorrerem em crianças acima dos 12 meses de idade.

A presente investigação apresentou alguns aspectos que diferem da maioria das casuísticas nacionais entre eles: o predomínio da ETEC entre as bactérias, a menor ocorrência da EPEC e da Salmonella sp e a maior frequência da S. sonnei em relação à S. flexneri.

RESUMO EM INGLÊS

Four hundred and ninety acute diarrheical episodes were studied during a period of one year, corresponding to 445 children that were examined, most of them as out-patients at the "Centro de Saúde Escola de Paulínia" and at the "Pronto Socorro" of the "Hospital Municipal de Paulínia". The clinical and epidemiological data from each patient were written on specific charts.

Stools samples were taken on 288 episodes, from 282 children.

The following enteropathogenic agents were seek: rotavirus, adenovirus, ETEC, EPEC, Shigella sp, Salmonella sp, Yersinia sp, Campylobacter sp, Giardia lamblia, Entamoeba histolytica, and Cryptosporidium spp.

Positive identification occurred in 59,4% of the episodes, the Bacterial were the most frequent, followed by enteropathogenic viruses agents and finally enteroparasites.

Bacterial agents were commonly seen in summer and the viral in the colder months of the year.

The most frequent agent found was the rotavirus, that is among 13,5% of the episodes.

The second agent in frequency was the E. coli enterotoxigenic, identified in 12,1% of the samples. Among the phenotypes studied, the commonest strains found belong to LT-only producers. None of the colonization factors studied, such as CFA/I, CFA/II and CFA/IV was detected in this research.

E. coli enteropathogenic was identified in 7,0% and Giardia lamblia in 6,2% of the episodes.

Shigella sp was identified in 5,2% of the samples and the strains of S. sonnei were more frequent than S. flexneri.

E. histolytica was identified in 2,0% of the episodes and adenovirus in 1,0%.

EIEC and Cryptosporidium spp occurred in 0,7% and 0,3% of the cases.

Campylobacter sp, Salmonella sp and Yersinia sp were not detected among the samples examined.

E.coli enterotoxigenic and Shigella sp occurred more in children over 12 months old.

This research showed some differences from most of the other studies carried out in Brazil, like the priority of ETEC among the bacteria, less occurrence of EPEC and Salmonella sp and greater frequency of S_sonnei over S.flexneri.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, M.R.; CLOONAN, M.J.; MONTGOMERY, J. & SMITH, D.D. - Pathogens detected in the faeces of children with diarrhoea in a Sydney hospital. *Med. J. Aust.*, 141: 26 - 28, 1984
- ADKINS, H.J.; ESCAMILLA, J.; SANTIAGO, L.T.; RAÑO, C.; ECHEVERRIA, P. & CROSS, J.H. - Two year survey of etiologic agents of diarrheal disease at San Lazaro Hospital, Manila, Republic of the Philippines. *J.Clin.Microbiol.*, 25: 1143 - 1147, 1987.
- AL-BWARDY, M.A.; RAMIA, S.; AL-FRAYH, A.R.; CHAGLA, A.H.; AL-OMAIR, A.A.; EL-HAZMI, M.A.; LAMBOURNE, A.; BAHAKIM, H. & SALMAN, H. - Bacterial, parasitic and viral enteropathogens associated with diarrhoea in Saudi children. *Ann.Trop.Paediatr.*, 8: 26 -30, 1988.
- ALPERT, G.; BELL, L.M.; KIRKPATRICK, C.E.; BUDNICK, L.D.; CAMPOS, J.M.; FRIEDMAN, H.M. & PLOTKIN, S. - Criptosporidiosis in a day care center. *Pediatrics*, 77: 152 - 175, 1986.
- ALVES, J.G.B. & FERREIRA, O.S. - Enteroparasitoses e diarréia em lactentes. *J.Pediatr. (Rio de Janeiro)*, 56: 89 - 91, 1984.
- ALVES, J.G.B.; MONTENEGRO, F. & REGALADO, I. - Criptosporidiose em crianças com desnutrição grave. *J.Pediatr. (Rio de Janeiro)*, 65: 220 - 222, 1989.
- AMATO Neto, V. & CORREA, L de L. - Descrição das técnicas recomendadas. In: *Exame parasitológico das fezes. Séries Monografias Médicas. 4ª ed.* São Paulo, Sarvier, 1980. p. 48.
- ARAYA, M.; FIGUEROA, G.; ESPINOZA, J.; MONTESINOS, N.; SPENCER, E. & BRUNSER, O. - Acute diarrhoeal disease in children under 7 years of age in a peri-urban slum of Santiago, Chile. *J.Hyg. (Cambridge)*, 95: 457 - 467, 1985.
- ATTERHOLM, I.; CASTOR, B. & NORLIN, K. - Cryptosporidiosis in Southern Sweden. *Scand.J.Infect.Dis.*, 19: 231 - 234, 1987.
- AZEREDO, R.S.; LEITE, S.P.G.; PEREIRA, H.G.; VIDAL, M.N.P.; ANDRADE, Z.P.; FARIAS, V.; STUMOLLER, F. & SCHATZMAYR, H.G. - Agentes virais associados à gastroenterite infantil no Rio de Janeiro, 1o. semestre - 1983. *Bol.Epidemiol. (Rio de Janeiro)*, 15: 193-194, 1983
- BALDACCI, E.R.; CANDEIAS, J.A.N.; BREVIGLIERI, J.C. & GRISI, S.J.E. - Etiologia viral e bacteriana de casos de gastroenterite infantil: uma caracterização clínica. *Rev. Saúde Publ.(São Paulo)*, 13: 47 - 53, 1979.

- BANATVALA, J.E.; CRYSTIE, I.L. & TOTTERDELL, B.M. - Rotaviral infection in human neonates. *J. Am. Vet. Assoc.*, 173: 527 - 530, 1978.
- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.; SHERRIS, J.C. & TRUCK, M. - Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, 45: 493 - 496, 1966.
- BAXBY, D.; BLUNDELL, N. & HART, C.A. - The development and performance of a simple, sensitive method for the detection of Cryptosporidium oocysts in faeces. *J. Hyg. (Cambridge)*, 92: 317 - 323, 1984.
- BENICIO, M.H.D.A.; MONTEIRO, C.A.; ZUNIGA, H.P.P. & RIO, E.M.B. - Estudo das condições de saúde das crianças do município de São Paulo, SP (Brasil), 1984 - 1985. IV - Doença Diarréica. *Rev. Saúde Publ. (São Paulo)*, 21: 23 - 28, 1987.
- BERNARDI, M.G.; VASCONCELOS, J.C.; COSTA, C.A. & GIUGLIANO, R. - Longitudinal study of diarrhoeal disease in a peri-urban community in Manaus (Amazonas-Brasil). *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 80: 443 - 450, 1986.
- BHAN, M.K.; RAJ, P.; BHANDARI, N.; SVENSSON, L.; STINTZING, G.; PRASAD, A.K.; JAYASHREE, S. & SRIVASTAVA, R. - Role of enteric adenoviruses and rotaviruses in mild and severe acute enteritis. *Pediatr. Infect. Dis.*, 7: 320 - 323, 1988.
- BIER, O. - Bactérias Intestinais. In: *Bacteriologia e Imunologia*. 18ª ed. São Paulo, Ed. Melhoramentos. 1977.
- BIRCH, C.J.; LEWIS, F.A.; KENNETH, M.L.; HOMOLA, M.; PRITCHARD, H. & GUST, I.D. - A study of the prevalence of rotavirus infection in children with gastroenteritis admitted to an infectious diseases hospital. *J. Med. Virol.*, 1: 69 - 77, 1977.
- BISHOP, R.F.; DAVIDSON, G.P.; HOLMES, I.H. & RUCK, B.J. - Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. *Lancet*, 2: 1281 - 1283, 1973.
- BISHOP, R.F.; CAMERON, D.S.J. & VEENSTRA, A.A. - Diarrhea and rotavirus infection associated with different regimes for post-natal care of newborn babies. *J. Clin. Microbiol.*, 9: 525 - 529, 1979.
- BISHOP, R.F.; BARNES, G.L.; CIPRIANI, E. & LUND, J.S. - Clinical immunity after neonatal rotavirus: A prospective longitudinal study in young children. *N. Engl. J. Med.*, 309: 72 - 76, 1983.
- BLACK, R.E.; MERSON, M.H.; RAHMAN, A.S.M.M.; YUNUS, M.; ALIM, A.R.M.A.; HUQ, I.; YOLKEN, R.H. & CURLIN, G.T. - A two year study of bacterial, viral and parasitic agents associated with diarrhea in Rural Bangladesh. *J. Infect. Dis.*, 142: 660 - 664, 1980.

- BLACK, R.E.; BROWN, K.H.; BECKER, S.; ALIM, A.R. & HUQ, I. - Longitudinal studies of infectious diseases and physical growth of children in rural Bangladesh. II. Incidence of diarrhea and association with known pathogens. *Am. J. Epidemiol.*, 115: 315 - 324, 1982.
- BLASER, M.J. & RELLER, L.B. - *Campylobacter* enteritis. *N. Engl. J. Med.*, 305: 1444 - 1452, 1981.
- BLASER, M.J.; POLLARD, R.A. & FELDMAN, R. - *Shigella* infections in the United States, 1974 - 1980. *J. Infect. Dis.*, 147: 771 - 775, 1983.
- BOGAERTS, J.; LEPAGE, P.; ROUVROY, D. & VANDEPITTE, J. - *Cryptosporidium* spp., a frequent cause of diarrhea in Central Africa. *J. Clin. Microbiol.*, 20: 874 - 876, 1984.
- BRANDT, C.D.; KIM, H.W.; RODRIGUEZ, W.J.; ARROBIO, J.O.; JEFFRIES, B.C.; STALLINGS, E.P.; LEWIS, C.; MILES, A.J.; CHANOCK, R.M.; KAPIKIAN, A.Z. & PARROT, R.H. - Pediatric viral gastroenteritis during eight years of study. *J. Clin. Microbiol.*, 18: 71 - 78, 1983.
- BRANDT, C.D.; KIM, H.W.; RODRIGUEZ, W.J.; ARROBIO, J.O.; JEFFRIES, B.C.; STALLINGS, E.P.; LEWIS, C.; MILES, A.J.; GARDNER, M.K. & PARROT, R.H. - Adenoviruses and pediatric gastroenteritis. *J. Infect. Dis.*, 151: 437 - 443, 1985.
- BREVIGLIERI, J.C.; HARSÍ, C.; BALDACCI, E.R.; CANDEIAS, J.A.N.; RÁCZ, M.L. & GUISI, S.J.E. - Análise clínica e etiológica das diarreias agudas virais. *Pediatr. (São Paulo)*, 2: 312 - 316, 1980.
- BURKE, V.; GRACEY, M.; ROBINSON, J.; PECK, D.; BEAMAN, J. & BUNDELL, C. - The microbiology of childhood gastroenteritis: *Aeromonas* species and other infective agents. *J. Infect. Dis.*, 148: 68 - 74, 1983.
- BUSTELO, J.; SUÁREZ, M.; OCAMPO, I.; PUERTO, C. & VICTORES, L. - Cryptosporidiosis in niños. In: *Anais de la IX Reunion de la Sociedad Latinoamericana de Gastroenterologia Pediatrica y Nutricion*. Cuba, 1989. p. 221.
- BUTLER, T.C. - Viral diarrhoeas. *J. Diarrhoeal Dis. Res.*, 2: 137 - 141, 1984.
- BUTZLER, J.P.; DEKEYSER, P.; DETRAIN, M. & DEHAEN, F. - Related "vibrio" in stools. *J. Pediatr.*, 82: 493 - 495, 1973.
- BUTZLER, J.P. & SKIRROW, M.B. - *Campylobacter* enteritis. *Gastroenterology*, 8: 737 - 765, 1979.
- CANTEY, J.R. - Infectious diarrhea - Pathogenesis and risk factors. *Am. J. Med.*, 28: 65 - 75, 1985.
- CARRADA-BRAVO, T. - La amibiasis invasora como problema de salud publica. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.*, 46: 139 - 148, 1989.

- CARY, S.G. & BLAIR, E.B. - New transport medium for shipment of clinical specimens I. Fecal specimens. *J. Bacteriol.*, 88: 96 - 98, 1964.
- CASALINO, M.; YUSUF, M.V.; NICOLETTI, M.; BAZZICALUPO, P.; COPPO, A.; COLONNA, B.; CAPPELLI, C.; BIANCHINI, A.; FALBO, B. & AHMED, H.G. - A two year study of enteric infections associated with diarrhoeal diseases in children in urban Somalia. *Trans. R. Soc. Med. Hyg.*, 82: 637 - 641, 1988.
- CASEMORE, D.P. & JACKSON, B. - Sporadic cryptosporidiosis in children. *Lancet*, 2: 679, 1983.
- CASTRO, A.F.P. de; SERAFIM, M.B.; GOMES, J.A. & GATTI, M.S.V. - Improvements in the passive immune haemolysis test for assaying enterotoxigenic Escherichia coli. *J. Clin. Microbiol.*, 12: 714 - 717, 1980.
- CEBALLOS, B.S. Ovruski - Salmonelose endêmica da criança em São Paulo: sorotipos, clones e origem nosocomial. São Paulo, 1984. (Tese de Mestrado, Escola Paulista de Medicina, mimeografada).
- CENTRO DE SAÚDE ESCOLA DE PAULÍNIA - Vigilância Epidemiológica - A mortalidade em Paulínia. Mimeografado, 1990.
- CEVENINI, R.; VAROLI, D.; RUMPIANESI, F.; MAZZARACHIO, R.; NANETTI, A. & LA PLACA, M. - A two longitudinal study on the etiology of acute diarrhea in young children in Northern Italy. *Microbiologica*, 8: 51 - 58, 1985.
- CHAMPSAUR, H.; QUESTIAUX, E.; PREVOT, J.; HENRY-AMAR, M.; GOLDSZMIDT, D.; BOURJOUANE, M. & BACH, C. - Rotavirus carriage, asymptomatic infection and disease in the first two years of life I. Virus shedding. *J. Infect. Dis.*, 149: 667 - 674, 1984a.
- CHAMPSAUR, H.; HENRY-AMAR, M.; GOLDSZMIDT, D.; PRENOT, J.; BOURJOUANE, M.; QUESTIAUX, E. & BACH, C. - Rotavirus carriage, asymptomatic infection and disease in the first two years of life II. Serological response. *J. Infect. Dis.*, 149: 675 - 682, 1984b.
- CLEMENTS, S.D. & FINKELSTEIN, R.A. - Immunological cross-reactivity between a heat-labile enterotoxin(s) of Escherichia coli and subunits of Vibrio cholerae enterotoxin. *Infect. Immun.*, 21: 1036 - 1039, 1978.
- CLEMENTS, J.D.; YANCEY, R.J. & FINKELSTEIN, R.A. - Properties of homogeneous heat-labile enterotoxin from Escherichia coli. *Infect. Immun.*, 29: 91 - 97, 1980.
- CONFERÊNCIA SANITÁRIA PANAMERICANA. Informe de las discusiones técnicas celebradas durante la XIX Conferência Sanitaria Panamericana - Estudios y estrategias necesarios para reducir la morbilidad y la mortalidad por infecciones entericas. *Bol. Of. Sanit. Panam.*, 78: 281 - 293, 1975.

- CONOVER, W.J. - Practical nonparametric statistics. New York, John Wiley & Sons, 1971.
- COOK, S.M.; GLASS, R.I.; LE BARON, C.W. & HO, M.S. - Global seasonality of rotavirus infections. *Bull.WHO*, 68:171-177, 1990.
- CORBETT-FEENEY, G. - Cryptosporidium among children with acute diarrhoea in the west of Ireland. *J.Infect.*, 14: 79 - 84, 1987.
- CRUZ, J.R.; CAND, F.; CÁCERES, P.; CHEW, F. & PAREJA, G. - Infection and diarrhoea caused by Cryptosporidium sp among Guatemalan infants. *J.Clin.Microbiol.*, 26: 88 - 91, 1988.
- DEAN, A.G.; CHING, Y.C.; WILLIAMS, R.G. & HARDEN, R.B. - Test for Escherichia coli enterotoxin using infant mice: application in a study of diarrhoea in Honolulu. *J.Infect.Dis.*, 125: 407 - 411, 1973.
- DE MOL, P.; BRASSEUR, D.; HENRELHOF, W.; KALALA, T.; BUTZLER, J.P. & VIS, H.L. - Enteropathogenic agents in children with diarrhoea in rural Zaire. *Lancet*, 1: 516 - 518, 1983.
- DIVISÃO DE PLANEJAMENTO DA PREFEITURA MUNICIPAL DE PAULÍNIA - Levantamento Populacional - 1988. Paulínia, 1988.
- DONTA, S.T.; WALLACE, R.R.; SHANNON, C.W. & OLARTE, J. - Enterotoxigenic Escherichia coli and diarrheal disease in Mexican children. *J.Infect.Dis.*, 135: 482 - 485, 1977.
- DuPONT, H.L. - Rotaviral gastroenteritis - Some recent developments. *J.Infect.Dis.*, 149: 663 - 666, 1984.
- DuPONT, H.L. - Diarrheal disease - An overview. *Am.J.Med.*, 78: 63-64, 1985.
- DuPONT, H.L. & SULLIVAN, P.S. - Giardiasis: the clinical spectrum, diagnosis and therapy. *Pediatr.Infect.Dis.*, 5 [Suppl]: S.131 - S.138, 1986.
- DYKES, A.C.; JURANEK, D.D.; LORENZ, R.A.; SINCLAIR, S.; JAKUBOWSKI, W. & DAVIES, R. - Municipal waterborne giardiasis: An epidemiologic investigation. *Ann.Intern.Med.*, 92: 165 - 170, 1980.
- ECHEVERRIA, P.; SERIWATANA, J.; TAYLOR, D.N.; YANGGRATOKE, S. & TIRAPAT, C. - A comparative study of enterotoxigenic Escherichia coli, Shigella, Aeromonas and Vibrio as etiologies of diarrhoea in northeastern Thailand. *Am.J.Trop.Med.Hyg.*, 34: 547 - 554, 1985.
- EDWARDS, P.R. & EWING, W.H. - Identification of bacteriaceae. 3rd ed. Minneapolis, Minnesota, Burgess Publishing Company, 1982.
- ELLIS, M.E.; WATSON, B.; MANDAL, B.K.; DUNBAR, F.M.; CRASKE, J.; CURAY, A.; ROBERTS, J. & LOMAX, J. - Micro-organisms in gastroenteritis. *Arch.Dis.Child.*, 59: 848 - 855, 1984.

- ESREY, S.A.; HABICHT, J.P.; LATHAM, M.C.; SISLER, D.G. & CASELLA, G. - Drinking water source, diarrheal morbidity and child water supplies in rural Lesotho, Southern Africa. *Am.J.Public Health*, 78: 1451 - 1455, 1988.
- EVANS, D.G.; SILVEIRA, R.P.; EVANS, D.J. Jr.; CHASE, D.G. & GORBACH, S.L. - Plasmid controlled colonization factor associated with virulence in Escherichia coli of serogroups 06 and 08 enterotoxigenic for humans. *Infect.Immun.*, 12: 656 - 667, 1975.
- EVANS, D.G.; EVANS, D.J. Jr. & TJOA, W. - Haemagglutination of human group A erythrocytes by enterotoxigenic Escherichia coli isolated from adults with diarrhea: correlation with colonization factor. *Infect.Immun.*, 18: 330 - 337, 1977a.
- EVANS, D.G.; OLARTE, J.; DuPONT, H.L.; EVANS, D.T.; GALINDO, E.; PORTNOY, B.L. & CONKLIN, R.H. - Enteropathogens associated with pediatric diarrhea in Mexico City. *J. Pediatr.*, 91: 65 - 68, 1977b.
- EVANS, D.G. & EVANS, D.J. Jr. - New surface associated heat-labile colonization factor antigen (CFA/II) produced by enterotoxigenic Escherichia coli of serogroup 06 and 08. *Infect.Immun.*, 21: 129 - 161, 1978.
- FAGUNDES Neto, U. - Diarréia aguda. *Rev.Assoc.Med.Bras.*, 29: 166 - 173, 1983a.
- FAGUNDES, Neto, U. - Diarréia: Conceito e suas respectivas características. In: *Gastroenterologia Pediátrica*. Rio de Janeiro, Medsi, 1983b. p. 116.
- FAGUNDES Neto, U.; GARCIA, A.; REIS, J.C.; TOLEDO, M.R.F. de & RACHID, L. - Etiologia da diarréia aguda em crianças hospitalizadas. In: *Reunion de la Sociedad Latino Americana de Gastroenterologia Pediátrica y Nutricion*. Cuba, 1989a. p. 209.
- FAGUNDES Neto, U.; REIS, J.C.; SABBAG, N.A. & OLIVA, C.A.G. - Diarréia aguda - evolução clínica em crianças. *Rev.Paul.Pediatr.*, 7: 27 - 34, 1989b.
- FALCÃO, D.P. - Presença de Yersinia enterocolitica et Yersinia pseudotuberculosis en Amérique Latine. *Rev.Microbiol.*, 21: 5 - 10, 1981.
- FEACHEN, R.G.; HOGAN, R.C. & MERSON, M.H. - Control de las enfermedades diarreicas. 1. Analisis de posibles intervenciones para reducir su alta incidência. *Bol.Of.Sanit.Panam.*, 99: 173 - 177, 1985.
- FERNANDEZ, Heriberto - Espécies termófilas de Campylobacter: aspectos bacteriológicos, epidemiológicos y patogénicos. São Paulo, 1983. (Tesis Doctoral. Escola Paulista de Medicina. mimeografada.)

- FERNANDEZ, H.; TOLEDO, M.R.F. de; FAGUNDES Neto, U. & TRABULSI, L.R. - Aislamento de *Campylobacter jejuni* en niños con diarrea aguda y controles sanos. *Rev. Med. Chile*, 112: 238 - 241, 1984.
- FERREIRA, O.S. & FIGUEIRA, F. - Diarréia Infectuosa Aguda. In: *Doenças Infectuosas e Parasitárias em Pediatria*. Rio de Janeiro, KDOGAN, 1981. p.87 - 97.
- FIORE, E.S.; BARINI, A.M.; MENDONÇA, E.R. de; LIMA, Q.L. de; MOLICA, T.; PROSPERO, M.A. de; MOTA, M.C. & NUYBERG, N. - Incidência de rotavírus no Hospital Infantil Menino Jesus (SP): ELISA - um método prático e eficaz para sua detecção. *Arq. Gastroenterol.* São Paulo, 23: 242 - 245, 1986.
- FLORES, J.; NAKAGOMI, D.; NAKAGOMI, T.; GLASS, R.; GORZIGLIA, M.; ASKAA, J.; HOSHINO, Y.; PEREZ-SCHAEL, I & KAPIKIAN, A. - The role of rotavirus in pediatric diarrhea. *Pediatr. Infect. Dis.*, 5: 553 - 562, 1986.
- FORATTINI, D.P. - *Epidemiologia Geral*. São Paulo, Ed. USP, 1976.
- FUNDAÇÃO DO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IX Recenseamento Geral do Brasil. IBGE, Rio de Janeiro, 1981.
- FUNDAÇÃO DO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - Pesquisa Nacional por amostra de domicílios - Regiões Metropolitanas. IBGE, Rio de Janeiro, volume 10, tomo 2, 1986.
- GAASTRA, W. & GRAAF, F.K. - Host-specific fimbrial adhesins of non invasive enterotoxigenic *Escherichia coli* strains. *Microbiol. Rev.*, 46: 129 - 161, 1982.
- GARCIA, C.A.; REIS, J.C. & FAGUNDES Neto, U. - Mortalidade na diarréia aguda em crianças hospitalizadas. In: *Anais da IX Reunion de la Sociedad Latinoamericana de Gastroenterologia Pediatrica y Nutricion*. Cuba, 1989, p.212.
- GATTI, M.S.V.; RICCI, L.C.; SERAFIM, M.B. & PESTANA DE CASTRO, A.F. - Incidência de *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC), Rotavírus e *Clostridium perfringens* de casos de diarréia em crianças, na região de Campinas, São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 31: 392 - 398, 1989.
- GEORGES, M.C.; WACHSMUTH, I.K.; MEUNIER, D.M.V.; NEBOUT, N.; DIDIER, F.; SIOPATHIS, M.R. & GEORGES, A.J. - Parasitic, bacterial and viral enteric pathogens associated with diarrhea in the Central African Republic. *J. Clin. Microbiol.*, 19: 571 - 575, 1984.
- GIUGLIANO, L.G. & GIUGLIANO, R. - Etiologia das diarréias agudas em Manaus: observações ambulatoriais e na comunidade. *Rev. Microbiol. (São Paulo)*, 16: 234 - 239, 1985.
- GOMEZ, F. - Desnutrición. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.*, 3: 543 - 551, 1946.

- GORBACH, S.L.; KEAN, B.H.; EVANS, D.G.; EVANS, D.J. & BESSUDO, O. - Traveler's diarrhea and toxigenic Escherichia coli. N.Engl.J.Med., 292: 933-936, 1981.
- GRACIA, J.; ARAUJO, A.; CALÇADO, A.; SABRÁ, A.; SANTALUCIA, G. & DANTAS, A. Cryptosporidium em diarréia de crianças no Rio de Janeiro. In: Anais do V Congresso Brasileiro de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição. Porto Alegre, 1988. Sessão Poster.
- GUERRANT, R.L.; KIRCHHOFF, L.V.; SHIELDS, D.S.; NATIONS, M.K.; LESLIE, J.; SOUSA, M.A. de; ARAUJO, J.G.; CORREIA, L.L.; SAUER, K.T. & McCLELLAND, K.E. - Prospective study of diarrheal illnesses in northeastern Brazil: Patterns of disease, nutritional impact, etiologies and risk factors. J.Infect.Dis., 148: 986 - 997, 1983.
- GUERRANT, R.L. - Unresolved problems and future considerations in diarrheal research. Pediatr.Infect.Dis., 5 [Suppl]: S 155 - S 161, 1986.
- GUIMAREY, L.Manuel - Crescimento e estado nutricional em escolares de Paulínia - São Paulo - Brasil. Campinas, 1983. (Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP. mimeografada).
- HART, C.A.; BAXBY, D. & BLUNDELL, N. - Gastroenteritis due to Cryptosporidium. A prospective study in a children's hospital. J.Infect., 9: 264 - 270, 1984.
- HERRING, A.J.; INGLIS, N.F.; DJEN, C.K.; SNODGRASS, D.R. & MENZIES, J.D. - Rapid diagnosis of rotavirus infection by direct detection of viral nucleic acid in silver-stained polyacrylamide gels. J.Clin.Microbiol., 16: 473 - 477, 1982.
- HERRINGTON, D.A.; TZIPORI, S.; ROBINS-BROWNE, R.M.; TALL, B.D. & LEVINE, M.M. - In vitro and in vivo pathogenicity of Plesiomonas shigelloides. Infect.Immun., 55: 979 - 985, 1987.
- HØJLYNG, N.; MØLBAK, K. & JEPSEN, S. - Cryptosporidium spp, a frequent cause of diarrhea in Liberian children. J.Clin.Microbiol., 23: 1109 - 1113, 1986.
- HOLTEN-ANDERSON, W.; GERSTOFT, J.; HENDRIKSEN, Sv.A. & PEDERSEN, N.S. - Prevalence of Cryptosporidium among patients with acute enteric infection. J.Infect., 9: 277 - 282, 1984.
- HULL, B.P.; SPENCE, L.; BASSETT, D.; SWANSTON, W.H. & TIKASINGH, E.S. - The relative importance of rotavirus and other pathogens in the etiology of gastroenteritis in Trinidadian children. Am.J.Trop.Med.Hyg., 31: 142 - 148, 1982.
- HUNT, D.A.; SHANNON, R.; PALMER, S.R. & JEPHCOTT, A.E. - Cryptosporidiosis in an urban community. Br.Med.J., 289: 814 - 816, 1984.

- JOKIPII, L.; POHJOLA, S. & JOKIPII, A.H.M. - Cryptosporidium a frequent finding in patients with gastrointestinal symptoms. *Lancet*, 2: 358 - 360, 1983.
- KANWAR, A.; MITTAL, S.K.; RAMACHANDRAN, V.G. & VARGHESE, A. - A critical study of Escherichia coli as a pathogens in acute gastroenteritis. *Indian Pediatr.*, 20: 113 - 119, 1983.
- KAPIKIAN, A.Z.; KIM, H.W.; WYATT, R.G.; CLINE, W.L.; ARROBIO, J.D.; BRANDT, C.D.; RODRIGUEZ, W.J.; SACK, D.A.; CHANOCK, R.M. & PARROTT, R.H. - Human reovirus-like agent as the major pathogen associated with winter gastroenteritis in hospitalized infants and young children. *N.Engl.J.Med.*, 294: 965 - 972, 1976.
- KELLY, M.T.; BRENNER, D.J. & FARNER III, J.J. - Enterobacteriaceae. In: *Manual of Clinical Microbiology*. 4 th.ed. Washington, DC, LENNETTE, E.H. American Society for Microbiology, 1985. p. 263.
- KEYSTONE, J.S.; KRAJDEN, S. & WARREN, M.R. - Person-to-person transmission of Giardia lamblia in day-care nurseries. *Can.Med.Assoc.J.*, 119: 241 - 258, 1978.
- KIDD, A.H.; ROSENBLATT, A.; BESSELAAR, T.G.; ERASMUS, M.J.; TIEMESSEN, C.T.; BERKOWITZ, F.E. & SCHOUB, B.D. - Characterization of rotaviruses and subgroup F adenoviruses from acute summer gastroenteritis in South Africa. *J.Med.Virol.*, 18: 159 - 168, 1986.
- KITAGAWA, S. - Contribuição ao estudo da diarreia infantil. São Paulo, 1984. (Tese de Doutorado, Escola Paulista de Medicina mimeografada).
- KITAGAWA, S.M.S.; TOLEDO, M.R.F. de; TRABULSI, L.R.; RAMOS, S.R.T. da S.; MURAHOVSKI, J.; FAGUNDES Neto, U. & CANDEIAS, J.A.N. - Etiologia da diarreia infecciosa endêmica. *Rev.Paul.Pediatr.*, 7: 16 - 25, 1989.
- KOCH, H.L.; PHILLIPS, D.J.; ROBERTY, C.A. & CURRENT, W.L. - Cryptosporidiosis in Hospital Personnel - evidence for person-to-person transmission. *Ann.Intern.Med.*, 102: 593 - 596, 1985.
- KONNO, T.; SUZUKI, H.; IMAI, A.; KITSUZAWA, T.; ISHIDA, N.; KATSUSHIMA, N.; SAKAMOTO, M.; KITAKA, S.; TSUBOI, P. & ADACHI, M. - A long term survey of rotavirus infection in Japanese children with acute gastroenteritis. *J.Infect.Dis.*, 138: 569 - 576, 1978.
- KOOPMAN, J.S.; TURKISH, V.J.; MONTO, A.S.; GOUVEA, V.; SRIVASTAVA, S. & ISAACSON, R.E. - Patterns and etiology of diarrhea in three clinical settings. *Am.J.Epidemiol.*, 119: 114 - 123, 1984.
- KOTLOFF, K.L.; LOSONSKI, G.A.; MORRIS, J.G.; WASSERMAN, S.S.; SINGH-NAZ, N. & LEVINE, M.M. - Enteric adenovirus infection and childhood diarrhea: an epidemiologic study in three clinical settings. *Pediatrics*, 84: 219 - 225, 1989.

- LAEMMLI, U.K. - Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature (London)*, 227: 680 - 685, 1970.
- LEITE, J.P.; PEREIRA, H.G.; AZEREDO, R.S. & SCHATZMAYR, H.G. - Adenoviruses in faeces of children with acute gastroenteritis in Rio de Janeiro, Brazil. *J. Med. Virol.*, 15: 203 - 209, 1985.
- LESER, W.; BARBOSA, V.; BARUZZI, R.G.; RIBEIRO, M.B.D. & FRANCO, L.J. - *Elementos de Epidemiologia Geral*. São Paulo, Atheneu, 1985.
- LEVINE, M.M. - Escherichia coli that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *J. Infect. Dis.*, 155: 377 - 389, 1987.
- LIMA, A.O. & SILVA, W.D. - *Imunologia, Imunopatologia e Alergia*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1970. p.673.
- LINHARES, A.C.; MONÇÃO, H.C.; GABBAY, Y.B.; ARAUJO, V.L. de; SERRUYA, A.C. & LOUREIRO, E.C. - Acute diarrhoea associated with rotavirus among children living in Belém, Brazil. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 77: 384 - 390, 1983.
- LINHARES, A.C.; GABBAY, Y.B.; FREITAS, R.B.; ROSA, E.S. da; MASCARENHAS, J.D. & LOUREIRO, E.C. - Longitudinal study of rotavirus infections among children from Belém, Brazil. *Epidem. Inf.*, 102: 129 - 145, 1989.
- LOUREIRO, E.C.B.; LINHARES, A. da C. & MATA, L. - Acute diarrhoea associated with Cryptosporidium sp in Belém, Brazil (Preliminary Report). *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 28: 138 - 140, 1986.
- MADELEY, C.R.; COSGROVE, B.P.; BELL, E.J. & FALLON, R.J. - Stool viruses in babies in Glasgow. I. Hospital admission with diarrhea. *J. Hyg. (Cambridge)*, 78: 261 - 273, 1977.
- MADELEY, C.R. - The emerging role of adenoviruses as inducers of gastroenteritis. *Pediatr. Infect. Dis.*, 5 [Suppl]: S 63 - S 74, 1986.
- MAGALHÃES, M.; ANDRADE, M. & CARVALHO, A.E. - Pathogenic Escherichia coli associated with infantile diarrhea. *Rev. Microbiol.*, 12: 38 - 41, 1981.
- MAIDIN, M.A.; THARAVANIJ, S. & CHAICUMPA, W. - Seasonal variation of enterotoxigenic Escherichia coli among children with diarrhoea in Bangkok. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 13: 385 - 391, 1982.
- MATA, L.; LIZANO, C.; HERNÁNDEZ, F.; MOHS, E.; HERRERO, L.; PEÑARANDA, M.E.; GAMBOA, F. & LEÓN, J. - Agentes infecciosos en la diarrea del niño hospitalizado en Costa Rica. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.*, 34: 955 - 969, 1977.

- MATA, L.; SIMHON, A.; PADILLA, R.; GAMBOA, M.M.; VARGAS, G.; HERNANDEZ, F.; MOHS, E. & LIZANO, C. - Diarrhea associated with rotaviruses, enterotoxigenic Escherichia coli, Campylobacter and other agents in Costa Rican children 1976 -1981. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 32: 146 - 153, 1983a.
- MATA, L.; SIMHON, A.; URRUTIA, J.J.; KRONMAL, R.A.; FERNÁNDEZ, R. & GARCIA, B. - Epidemiology of rotaviruses in a cohort of 45 Guatemalan Mayan Indian children observed from birth to the age of three years. *J. Infect. Dis.*, 148: 452 - 461, 1983b.
- MATA, L.; BOLANOS, H.; PIZARRO, D. & VIVES, M. - Cryptosporidiosis in children from some highland Costa Rican rural and urban áreas. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 33: 24 - 29, 1984.
- MATA, L. - Cryptosporidium and other protozoa in diarrheal disease in less developed countries. *Pediatr. Infect. Dis.*, 5 [Suppl]: S 117 - S 130, 1986.
- MATHAN, M.M.; VENKATESAN, S.; GEORGE, R.; MATHEW, M. & MATHAW, V.I. - Cryptosporidium and diarrhoea in Southern Indian children. *Lancet*, 2: 1172 - 1175, 1985.
- MEISEL, J.L.; PEREIRA, D.R.; MELIGRO, C. & RUBIN, E. - Overwhelming watery diarrhea associated with a Cryptosporidium in an immunosuppressed patient. *Gastroenterology*, 70: 1156 - 1160, 1976.
- MC LEAN, M.; BRENNAN, R.; HUGHES, J.M.; KORZENIOWSKI, O.M.; SOUZA, M.A. de; ARAUJO, J.G.; BENEVIDES, T.M. & GUERRANT, R.L. - Etiology of childhood diarrhea and oral rehydration therapy in northeastern Brazil. *Bull. Pan. Am. Health. Organ.*, 15: 318 - 325, 1982.
- MOELLERING, Jr, R.C. - *Clínicas de Doenças Infecciosas da América do Norte*. Rio de Janeiro, Copyright by Interlivros Edições Ltda, 1988. volume 3.
- MOHANDAS, V.; UNNI, J.; MATHEW, M.; STEINHOFF, M.C.; RAJAN, D.P.; MATHAN, M. & PEREIRA, S.M. - Aetiology and clinical features of acute childhood diarrhoea in an outpatient clinic of Vellore, India. *Ann. Trop. Paediatr.*, 7: 167 - 172, 1987.
- MOL, P.; BRASSEUR, D.; HEMELHOF, W.; KALALA, T.; BUTZLER, J.P. & VIS, H.L. - Enteropathogenic agents in children with diarrhoea in rural Zaire. *Lancet*, 1: 516 -518, 1983.
- MONTELLI, A.C. & TRABULSI, L.R. - Diarréias causadas por "Shigella", "Salmonella" e "Escherichia coli" Enteropatogênica no município de Botucatu - S. Paulo. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, 16: 23 - 26, 1970.
- MONTESSORI, G.A. & BISCHOFF, L. - Cryptosporidiosis a cause of summer diarrhea in children. *Can. Med. Assoc. J.*, 132: 1285, 1985.

- MORCILLO, A. Moreno - Estudo comparativo de sete parâmetros antropométricos em escolares da cidade de Paulínia - São Paulo, referente aos períodos 1979/1980 e 1984/1985. Campinas, 1987. (Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP. mimeografada).
- MORGAN, D.R.; JOHNSON, P.C.; DuPONT, H.L.; SATTERWHITE, T.K. & WOOD, L.V. - Lack of correlation known virulence properties of Aeromonas hydrophila and enteropathogenicity for humans. *Infect. Immun.*, 50: 62 - 65, 1985.
- MOYENUDDIN, M. & RAHMAN, K.M. - Enteropathogenic Escherichia coli in diarrhea in hospitalized children in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.*, 22: 838 - 840, 1985.
- MOYENUDDIN, M.; RAHMAN, K.M. & SACK, D.A. - The aetiology of diarrhoea in children at an urban hospital in Bangladesh. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 81: 299 - 302, 1987.
- MUNOZ, P.; TELLERIAS, L.; PEÑA, A.; FERNANDEZ, A.; GIGLIO, M.; ALARCÓN, T.; D OTTONE, K.; ZAPATA, L.; WEITZ, J.C.; PINTO, M.E. & SAELZER, E. - Etiologia del síndrome diarreico agudo del lactante. In: *Anais da VIII Reunião da Sociedade Latinoamericana de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição*. São Paulo, 1987. p. 7.
- MURAHOVSKI, J. - A saga das EPEC - contribuição brasileira para a elucidação de um mistério clínico-científico. *Rev. Paul. Pediatr.*, 7: 82 - 86, 1989.
- NALIN, D.R.; RAHAMAN, M.; MC LAUGHLIN, J.C.; YUNUS, M. & CURLING, G. - Enterotoxigenic Escherichia coli diarrhoea in Bangladesh. *Lancet*, 2: 1116 - 1119, 1975.
- NATARO, J.P.; BALDINI, M.M.; KAPER, J.B.; BLACK, R.E.; BRAVO, N. & LEVINE, M.M. - Detection of an adherence factor of enteropathogenic Escherichia coli with a D.N.A. probe. *J. Infect. Dis.*, 152: 560 - 565, 1985.
- NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS - NCHS Growth curves for children birth - 18 year; United States, Vital and Health Statistics, series 11, nº 165, 1977.
- NAZER, H. - Acute diarrhoea in the developing world. *J. Trop. Pediatr.*, 28: 1 - 4, 1982.
- NELSON, J.D. - Etiology and epidemiology of diarrheal diseases in the United States. *Am. J. Med.*, 78 [Suppl 6B]: 76 S - 80 S, 1985.
- NIELSEN, J.; SCHILT, U.; HEINZER, I.; SCHAAD, U.B. - Les diarrhées infectieuses de l'enfant. Résultats d'une étude prospective portant sur certains aspects épidémiologiques et cliniques des diarrhées infectieuses de l'enfant. *Schweiz. Med. Wochenschr.*, 117: 518 - 526, 1987.

- NIME, F.A.; BUREK, J.D.; PAGE, D.L.; HOLSCHER, M.A. & YARDLEY, J.H. - Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan Cryptosporidium. *Gastroenterology*, 70: 592 - 598, 1976.
- O'DONOGHUE, P.J. - Cryptosporidium infection in man, animals, birds and fish. *Aust.Vet.J.*, 62: 253 - 258, 1985.
- OLARTE, J. & PEREZ, G.I. - Campylobacter jejuni in children with diarrhea in Mexico City. *Pediatr.Infect.Dis.*, 2: 18 - 20, 1983.
- OLARTE, J. - Etiopatogenia de las diarreas infecciosas. *Bol.Med.Hosp.Infant.Mex.*, 42: 66 - 72, 1985.
- ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD - Manual de tratamiento de la diarrea. Serie Paltext, No. 13.OPAS, 1987.
- OSISANYA, J.O.; DANIEL, S.D.; SEHGAL, S.C.; AFIGBO, A.; IYANDA, A.; OKORO, F.I. & MBELU, N. - Acute diarrhoeal disease in Nigeria: detection of enteropathogens in a rural sub-Saharan population. *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg.*, 82: 773 - 777, 1988.
- OSMO, A.A.; ARAUJO, M.C.K. DE; BARISON, E.; GILIO, A.E.; BERNABE, A.L.B.C.; CARNEIRO, R.G.; COSTA, M.T. da & MANISSADJIAN, A. - Estudo etiológico de 252 casos de diarréia aguda internados no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo. *Pediatr.(São Paulo)*, 5: 175 - 183, 1983.
- OSTERHOLM, M.T.; FORFANG, J.C.; RISTINEN, T.L.; DEAN, A.G.; WASHBURN, J.W.; GODES, J.R.; RUDE, R.A. & . . . A outbreak of foodborne giardiasis. *N.Engl.J.Med.*, 304: 24 - 28, 1981.
- PEREIRA, H.G. - Comparison of polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE), immuno-electron microscopy(IEM) and enzyme immuno assay (EIA) for the rapid diagnosis of Rotavirus. *Mem.Inst.Oswaldo Cruz*, 78: 483 - 490, 1983.
- PEREIRA, H.G.; AZEREDO, R.S.; LEITE, J.P.G.; ANDRADE, Z.P. & CASTRO, L. - A combined enzyme immuno assay for rotavirus and adenovirus (EIARA). *J.Virol.Meth.*, 10: 21 - 28, 1985.
- PEREZ, J.N.; REIS, L.F.L.; GONTIJO, J.G.; QUEIROZ, D.M.M.; MENDES, E.N. & PENNA, F.J. - Participação de Rotavírus e Adenovírus na diarréia aguda da infância, em Belo Horizonte. *Rev.Microbiol.(São Paulo)*, 19: 180 - 183, 1988.
- PEREZ-SCHAEL, I.; BOHER, Y.; MATA, L.; PEREZ, M. & TAPIA, F.J. - Cryptosporidiosis in Venezuelan children with acute diarrhea. *Am.J.Trop.Med.Hyg.*, 34: 721 - 722, 1985.

- PESSOA, G.V.A.; CALZADA, C.T.; PEIXOTO, E.S.; MELLES, C.E.A.; KANO, E.; RASKIN, M.; SIMONSEN, V. & IRIND, K. - Ocorrência de bactérias enteropatogênicas em São Paulo no septênio 1970 - 1976. III - Sorotipos de Shigella e de Escherichia coli da gastroenterite infantil. Rev.Inst.Adolfo Lutz, 38: 129 - 139, 1978.
- PHILLIPS, S.C.; MILDVAN, D.; WILLIAM, D.C.; GELB, A.M. & WHITE, M.C. - Sexual transmission of enteric protozoa and helminths in a venereal-disease-clinic population. N.Engl.J.Med., 305: 603 - 606, 1981.
- PICKERING, L.K.; EVANS, D.J.; MUNDOZ, O.; DuPONT, H.L.; COELLO-RAMIREZ, P.; VOLLET, J.J.; CONKLIN, R.H.; OLARTE, J. & KOHL, S. - Prospective study of enteropathogens in children with diarrhea in Houston and Mexico. J.Pediatr., 93: 383 - 388, 1978.
- PICKERING, H. - Social and environmental factors associated with diarrhoea and growth in young children: child health in urban Africa. Soc.Sci.Med., 21: 121 - 127, 1985.
- PITLIK, S.D.; FAINSTEIN, V.; GARZA, D.; GUARDA, L.; BOLIVAR, R.; RIOS, A.; HOPFER, R.L. & MANSELL, P.A. - Human cryptosporidiosis: Spectrum of disease. Arch.Intern.Med., 143: 2269 - 2275, 1983.
- POHLENZ, J.; MOON, H.W.; CHEVILLE, N.F. & BEMRICK, W.J. - Cryptosporidiosis as a probable factor in neonatal diarrhea of calves. J.Am.Vet.Med.Assoc., 172: 452 - 457, 1978.
- PUFFER, R.R. & SERRANO, C.V. - Patterns of mortality in childhood. In: PanAmericam Health Organization, PAHO. Scientific Publication, Washington, D.C., nº.262, 1973.
- QUEIRÓZ, D.M.M. & MENDEZ, E.N. - Frequência de Escherichia coli enteropatogênica em crianças com diarréia aguda e em controles, em Belo Horizonte. Rev.Microbiol.(São Paulo), 16: 95 - 100, 1985.
- QUEIRÓZ, D.M.; MENDEZ, E.N.; PENNA, F.J.; PERET-FILHO, L.A. de; FIGUEIREDO-FILHO, P.P.; DUARTE, M.A. & PEREZ, J.N. - Pesquisa de bactérias enteropatogênicas em crianças com diarréia aguda, em Belo Horizonte, MG. Arq.Gastroenterol.(São Paulo), 24: 46 - 50, 1987.
- QUINN, T.C.; BENDER, B.S. & BARTLETT, J.G. - New developments in infectious diarrhea. Dis.Mon., 32: 165-244, 1986.
- RÁCZ, M.L.; CANDEIAS, J.A.; TRABULSI, L.R. & MURAHOVUSCHI, J. - Diarrheal diseases in Brazil: clinical features of rotavirus - associated gastroenterites in children. Eur.J.Epidemiol., 4: 382 - 385, 1988.
- RASSI, V. - Aspectos microbiológicos e clínicos da doença diarréica aguda no primeiro ano de vida. São Paulo, 1988. (Tese de Doutorado, Escola Paulista de Medicina, mimeografada).

- RATNAM, S.; PADDOCK, J.; MC DONALD, E.; WHITTY, D.; JONG, M.; & COOPER, R. - Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts in fecal samples submitted for routine microbiological examination. *J.Clin.Microbiol.*, 22: 402 - 404, 1985.
- REIS, M.H.L.; GUT, B.E.C.; GOMES, T.A.T.; MURAHOVSKI, J. & TRABULSI, L.R. - Frequency of *Escherichia coli* strains producing heat-labile toxin or heat-stable toxin or both in children with and without diarrhea in São Paulo. *J.Clin.Microbiol.*, 15: 1062 - 1064, 1982.
- REIS, J.C.; OLIVA, C.A.G.; SABBAG, N.A.; & FAGUNDES Neto, U. - Agentes enteropatogênicos em pacientes hospitalizados. In: Anais do V Congresso Brasileiro de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição. Porto Alegre, 1988. Sessão VI.
- RILEY, L.W.; CEBALHOS, B.S.O.; TRABULSI, L.R.; TOLEDO, M.R.F. de & BLAKE, P.A. - The significance of hospitals as reservoirs for endemic multiresistant *Salmonella thyphimurium* causing infection in urban Brazilian children. *J.Infect.Dis.*, 150: 236 - 241, 1984.
- RIVERON-CORTEGUERA, R. & MUNIZ, J.A.G. - Enfermedades diarreicas agudas en America Latina, 1970 - 1979. La situacion en Cuba. *Bol.Of.Sanit.Panam.*, 92: 508 - 519, 1982.
- REPLAN - Refinaria de Petróleo do Planalto : Setor de Águas e Meio Ambiente, 1988.
- RODRIGUEZ, W.J.; KIM, H.W.; BRANDT, C.D.; SCHWARTZ, R.H.; GARDNER, M.K.; JEFFRIES, B.; PARROTT, R.H.; KASLOW, R.A.; SMITH, J.I. & TAKIFF, H. - Fecal adenoviruses from a longitudinal study of families in Metropolitan Washington, DC: laboratory, clinical and epidemiologic observations. *J.Pediatr.*, 107: 514 - 520, 1985.
- SABRÁ, A.; CALÇADO, A.; GARCIA, J.; SANTALUCIA, G.; VALLADARES, M.; MADURO, A.L.; CARNEIRO, N.; CITARELLA, E.; DANTAS, A.; DIAS, E. & PRATES, E. - Etiologia da diarreia aguda - comparação entre dois grupos socioeconomicamente distintos. In: Anais da VIII Reunião da Sociedade Latinoamericana de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição. Rio de Janeiro, 1987. p.3.
- SACK, D.A.; MERSON, M.H.; WELLS, J.G.; SACK, R.B. & MORRIS, G.K. - Diarrhoea associated with heat-stable enterotoxin-producing strains of *Escherichia coli*. *Lancet*, 2: 239 - 241, 1975.
- SEN, D.; SAHA, M.R.; NIYOGI, S.K.; NAIR, G.B.; DE, S.P.; DATTA, P.; DATTA, D.; PAL, S.C.; BOSE, R. & ROYCHOWDHURY, J. - Aetiological studies on hospital in-patients with acute diarrhoea in Calcutta. *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg.*, 77: 212 - 214, 1983.
- SEN, D.; GANGULY, U.; SAHA, M.R.; BHATTACHARYA, S.K.; DATTA, P.; DATTA, D.; MUKHERJEE, A.K.; CHAKRAVARTY, R. & PAL, S.C. - Studies on *Escherichia coli* as a cause of acute diarrhea in Calcutta. *J.Med.Microbiol.*, 17: 53 - 58, 1984.

- SÉRENY, B. - Biochemical reactions and virulence of E. coli O:124:K72 (B17). Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung., 10: 11 - 18, 1963.
- SERVIÇO DE ARQUIVO MÉDICO E ESTATÍSTICA DO HOSPITAL MUNICIPAL DE PAULÍNIA - Registro de Atendimento: SAME -1990. 1990.
- SHAHID, N.S.; RAHMAN, A.S.M.H.; ANDERSON, B.C.; MATA, L.J. & SANYAL, S.C. - Cryptosporidiosis in Bangladesh. Br. Med. J., 1: 114 - 115, 1985.
- SHAYEGANI, M.; MORSE, D.; DEFORGE, I.; ROOT, T.; PARSONS, L.M. & MAUPIN, P.S. - Microbiology of a major foodborne outbreak of gastroenteritis caused by Yersinia enterocolitica serogroup O:B. J. Clin. Microbiol., 17: 35 - 40, 1983.
- SILVA, L.; CARNEIRO, N.; SANTOS, I.; GUEVARA, I.; GÓES, A. & REIS, Z. - Características da mortalidade por diarreia aguda em Salvador - Análise dos Atestados de óbito. In: Anais do V Congresso Brasileiro de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição. Porto Alegre, 1988. Sessão VI.
- SIMANGO, C. & DINDIWE, J. - The aetiology of diarrhoea in a farming community in Zimbabwe. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 81: 552 - 553, 1987.
- SIMHON, A. & MATA, L. - Fecal rotaviruses, adenoviruses, coronavirus-like particles, and small round viruses in a cohort of rural Costa Rican children. Am. J. Trop. Med. Hyg., 34: 931 - 936, 1985.
- SIMHON, A. - Virologia de los rotavirus y epidemiologia de la diarrea por rotavirus. Bol. Of. Sanit. Panam., 98: 295 - 308, 1985.
- SMITH, H.W. & HALLS, S. - Studies on Escherichia coli enterotoxin. J. Path. Bact., 93: 531 - 543, 1967.
- SNYDER, J.D. & MERSON, M.H. - The magnitude of the global problem of acute diarrhoeal disease: A review of active surveillance data. Bull. WHO, 60: 605 - 613, 1982.
- SOARES, M.G.M.; ROSA, Y. de O.; SILVA, G.L.; BALDI, M.O.; FERREIRA, C.T.; PIRES, A.L.G.P. & SILVEIRA, T.R. da - Freqüência de Cryptosporidium em crianças com diarreia aguda. In: Anais da VIII Reunião da Sociedade LatinoAmericana de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição. São Paulo, 1987. p. 46.
- SOARES, M.G.M.; ROSA, Y. de O. & SILVEIRA, T.R. da - Cryptosporidium em diarreia de crianças no Rio de Janeiro. In: Anais do V Congresso Brasileiro de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição. Porto Alegre, 1988. Sessão Poster.

- SOENARTO, Y.; SEBODO, T.; SURYANTORO, P.; KRISNOMURTI; HAKSOHUSODO, S.; ILYAS; KUSNIYO; RISTANTO; ROMAS, M.A.; NOERHAJATI; MUSWUROH, S.; ROHDE, J.E.; RYAN, N.J.; LUKE, R.K.J.; BARNES, G.L. & BISHOP, R.F. - Bacteria, parasitic agents and rotaviruses associated with acute diarrhoea in hospital in-patient Indonesian children. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 77: 724 - 730, 1983.
- STANTON, B.; SILIMPERI, D.R.; KHATUN, K.; KAY, B.; AHMED, S.; KHATUN, J. & ALAM, K. - Parasitic, bacterial and viral pathogens isolated from diarrhoeal and routine stool specimens of urban Bangladesh children. *J. Trop. Med. Hyg.*, 92: 46 - 55, 1989.
- STUMPF, M.; RICCIARDI, I.D.; OLIVEIRA, N.; SABRÁ, A. & BERNHOEFT, M. - Yersinia enterocolitica as a cause of infantile diarrhoea in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Bras. Pesq. Med. Biol.*, 11: 383 - 384, 1978.
- SUÁREZ, R.M. & CABANAS, K. - Parasitismo intestinal, um estigma del subdesarrollo. In: *Anais da IX Reunion de la Sociedad Latinoamericana de Gastroenterologia Pediatrica y Nutricion. Cuba, 1989.* p. 222.
- SUBRAMANYAN, V.R.; BROADHEAD, R.L.; PAL, B.B.; PATI, J.B. & MOHANTY, G. - Cryptosporidiosis in children of eastern India. *Ann. Trop. Paediatr.*, 9: 122 - 125, 1989.
- TABDADA, A.B.; PINA, R.; BUSTELO, J. & GARCIA, A.L. - Etiologia de la enfermedad diarreaica aguda em 300 casos estudiados. In: *Anais da IX Reunion de la Sociedad Latinoamericana de Gastroenterologia Pediatrica y Nutricion. Cuba, 1989.* p. 217.
- TANOWITZ, H.B.; WEISS, L.M. & WITTNER, M. - Diagnosis and treatment of protozoan diarrheas. *Am. J. Gastroenterol.*, 83: 339 - 350, 1988.
- TANUS, R.; GABRIEL, V.L.B.; SCHMITZ, L.G.; NUNES, M.L.C.; FERRAZ, L.R.; INHAN, T.M. & TEIXEIRA, J.M.S. - Estudo da etiologia das diarréias agudas na região do Distrito Federal. In: *Anais da VIII Reunião da Sociedade Latinoamericana de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição. São Paulo, 1987.* p. 40.
- TAYLOR, D.N.; ECHEVERRIA, P.; PAL, T.; SETHABUTR, O; SAIBORISUTH, S; SRICHARMORN, S.; ROWE, B. & CROSS, J. - The role of *Shigella* spp., enteroinvasive Escherichia coli and other enteropathogen as causes of childhood dysentery in Thailand. *J. Infect. Dis.*, 153: 1132 - 1138, 1986.
- TEIXEIRA, J.M.S.; INHAN, T.M.; FERRAZ, L.R.; TANUS, R.; GABRIEL, V.B. & SCHMITZ, L.G. - Frequência de agentes bacterianos, virais e parasitos isolados de crianças portadoras de diarréia aguda, na região do Distrito Federal, de acordo com a faixa etária. In: *Anais da VIII Reunião da Sociedade Latinoamericana de Gastroenterologia Pediátrica e Nutrição. São Paulo, 1987.* p. 4.

- THOMAS, L.V.L.; CRAVIOTO, A.; SCOTLAND, S.M. & ROWE, B. - New fimbrial antigenic type (EB 775) that may represent a colonization factor in enterotoxigenic Escherichia coli in human. *Infect.Immun.*, 35: 1119 - 1124, 1982.
- THORÉN, A. - The role of enteropathogenic E.coli in infantile diarrhoea. *Scand.J.Infect.Dis.*, 37 [Suppl]: 1 - 51, 1983.
- TOCA, M.; PELUFFO, G.I.; REYNOSO, R. & CERVETTO, J.L. - Cryptosporidiasis en la infancia. In: Anais da IX Reunion de la Sociedad Latinoamericana de Gastroenterologia Pediatrica y Nutricion. Cuba, 1989. p.221.
- TOLEDO, M.R.F. de; FONTES, C.F. & TRABULSI, L.R. - MILi - um meio para realização dos testes de motilidade, indol e lisina descarboxilase. *Rev.Microbiol. (São Paulo)*, 13: 230 - 235, 1982a.
- TOLEDO, M.R.F. de; FONTES, C.F. & TRABULSI, L.R. - EPM -Modificação do meio de Rugai e Araujo para a realização simultânea dos testes de produção de gás à partir de glucose, H₂S, urease e triptofanodesaminase. *Rev.Microbiol.(São Paulo)*, 13: 309 - 315, 1982b.
- TOLEDO, M.R.F. de; ALVARIZA, M.C.B.; MURAHOVSKI, J.; RAMOS, S.R.T.S. & TRABULSI, L.R. - Enteropathogenic Escherichia coli serotypes and endemic diarrhea in infants. *Infect.Immun.*, 39: 586 - 589, 1983.
- TORRES, A.Lleras de - Estudo microbiológico da diarréia aguda da criança em uma comunidade de favelados da cidade de São Paulo. São Paulo, 1984. (Tese de Mestrado, Escola Paulista de Medicina, mimeografada).
- TRABULSI, L.R. - Microbiologia das infecções intestinais. Rio de Janeiro, Atheneu, (Atualização em Microbiologia Clínica, Vol.1) 1981.
- TRABULSI, L.R.; TOLEDO, M.R.F. de; CEBALLOS, B.S.O. & CANDEIAS, J.A.N. - Epidemiologia da diarréia na America do Sul. In: Infectious diarrhoea in the young. Elsevier Science Publishers, B.V. (Biomédical Division) S.Tzipori et als eds. p. 121 - 125, 1985a.
- TRABULSI, L.R.; TOLEDO, M.R.F. de; MURAHOVSKI, J.; FAGUNDES Neto, U. & CANDEIAS, J.A.N. - Epidemiology of infantile diarrheal disease in Brazil. In: Bacterial diarrheal diseases. Boston, TAKEDA, Y. & MIWATAMI, T. eds. Martins Nijhoff Pub., 1985b. p. 25 - 36.
- TRABULSI, L.R. - Microbiologia. Rio de Janeiro, Livraria Atheneu, 1989.
- TRUJILLO, H.; JAMARILLO, C.; RESTREPO, M.; MEJIA, G.I.; ZAPATA, C.T.; RAMIREZ, R. & BETANCUR, R. - Rotavirus y otros enteropatogenos en la etiologia de la diarrhea aguda en Medellin, Colombia, 1982. *Bol.Of.Sanit.Panam.*, 98: 251 - 260, 1985.

- TZIPORI, S. - Cryptosporidiasis in animals and humans. *Microbiol. Rev.*, 47: 84 - 96, 1983.
- TZIPORI, S. - Cryptosporidium: Notes on epidemiology and pathogenesis. *Parasitology Today*, 1: 159 - 165, 1985.
- UHNDO, I.; GORAN, W.; LENNART, S. & JOHANSSON, M.E. - Importance of enteric adenoviruses 40 and 41 in acute gastroenteritis in infants and young children. *J. Clin. Microbiol.*, 20: 365 - 372, 1984.
- UHNDO, I. & SVENSSON, L. - Clinical and epidemiology features of acute infantile gastroenteritis associated with human rotavirus subgroups 1 and 2. *J. Clin. Microbiol.*, 23: 551 - 555, 1986.
- WADSTRÖM, T.; AUGUST-KETTIS, A.; HABTE, D.; HOLMGREN, J.; MEEUWISSE, G.; MOLLBY, R. & SÖDERLIND, O. - Enterotoxin-producing bacteria and parasites in stools of ethiopian children with diarrhoeal disease. *Arch. Dis. Child.*, 51: 865 - 870, 1976.
- WALSH, J.A. & WARREN, K.S. - Selective primary health care. An interim strategy for disease control in developing countries. *N. Engl. J. Med.*, 301: 967 - 974, 1979.
- WATSON, B.; ELLIS, M.; MANDAL, B.; DUNBAR, E.; WALE, K. & BRENNAND, J. - A comparison of the clinico pathological features with stool pathogens in patients hospitalized with the symptom of diarrhoea. *Scand. J. Infect. Dis.*, 18: 553 - 559, 1986.
- WEIKEL, C.S.; JOHSTON, L.J.; SOUSA, M.A. de & GUERRANT, R.L. - Cryptosporidiosis in Northeastern Brazil: association with sporadic diarrhea. *J. Infect. Dis.*, 151: 963 - 965, 1985.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION - Amoebiasis report of a WHO Expert Committee. In: Technical Report Series, No. 421, Geneva, 1969.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION - Intestinal protozoan and helminthic infections: Report of a WHO Scientific Group. In: Technical Report Series No. 666. Geneva, 1981.
- YANO, T.; OLIVEIRA, M.S.; FONTES, C.F.; ALMEIDA, A.C.P. de & CASTRO, A.F.P. de - Detection of heat-labile (LT) enterotoxin of enterotoxigenic Escherichia coli by the radial immune haemolysis test: a modification for clinical use. *Med. Microbiol. Immunol.*, 171: 171 - 178, 1982.
- YANO, T.; LEITE, D.S.; CAMARGO, I.J.B. & CASTRO, A.F.P. de - A probable new adhesive factor (F42) produced by enterotoxigenic Escherichia coli isolated from pigs. *Microbiol. Immunol.*, 30: 485 - 508, 1986.
- YOLKEN, R.H.; LAWRENCE, F.; LEISTER, F.; TAKIFF, H.E. & STRAUSS, S.E. - Gastroenteritis associated with enteric type adenovirus in hospitalized infants. *J. Pediatr.*, 101: 21 - 26, 1982.

ZANOLLI, M.L.; MACCHIAVERNI, L.M.L. & MIRANDA, V.L. - Avaliação nutricional: programa de atenção ao pré-escolar. Centro de Saúde Escola de Paulínia. In: Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Pediatria. Salvador, 1983.

APÊNDICE



UNICAMP

DIARRÉIA AGUDA
INVESTIGAÇÃO ETIOLÓGICA NO MUNICÍPIO DE PAULÍNIA-SP

LOCAL DE ATENDIMENTO		DATA	FICHA FAMILIAR Nº	PACIENTE Nº	
INICIAIS DO PACIENTE		DATA DE NASCIMENTO	PESO/ALTURA	SEXO <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F COR <input type="checkbox"/> B <input type="checkbox"/> N B	
PROFISSÃO DO PAI		PROFISSÃO DA MÃE		Nº DE PESSOAS NA FAMÍLIA	
ENDEREÇO DO PACIENTE				RENDA FAMILIAR Cz\$	
DESNUTRICÃO					
<input type="checkbox"/> AUSENTE <input type="checkbox"/> 1º GRAU <input type="checkbox"/> 2º GRAU <input type="checkbox"/> 3º GRAU					
<input type="checkbox"/> ALT. NOS CABELOS <input type="checkbox"/> HEPATOMEGALIA <input type="checkbox"/> EDEMA <input type="checkbox"/> DERMATOSE					
DURAÇÃO DO ALEITAMENTO MATERNO		ALIMENTAÇÃO ATUAL			
EXCLUSIVO: _____ MESES					
MISTO: _____ MESES					
FONTE DE ÁGUA NO DOMICÍLIO		DESTINO DAS FEZES			
<input type="checkbox"/> REDE PÚBLICA <input type="checkbox"/> OUTRA		<input type="checkbox"/> REDE PÚBLICA <input type="checkbox"/> FOSSA <input type="checkbox"/> OUTRO			
ANIMAIS NO DOMICÍLIO					
<input type="checkbox"/> NÃO <input type="checkbox"/> SIM. QUAL?					
ORIGEM DA DOENÇA DIARRÉICA AGUDA					
<input type="checkbox"/> INTRA-HOSPITALAR <input type="checkbox"/> DOMICILIAR					
DURAÇÃO DA DIARRÉIA					
<input type="checkbox"/> < 12 H <input type="checkbox"/> 12 - 36 H <input type="checkbox"/> 37 - 72 H <input type="checkbox"/> > 72 H					
DURAÇÃO DOS VÔMITOS					
<input type="checkbox"/> AUSENTES <input type="checkbox"/> 12 - 36 H <input type="checkbox"/> 37 - 72 H <input type="checkbox"/> > 72 H					
Nº DE EVACUAÇÕES		VOLUME DAS EVACUAÇÕES			
_____ VEZES POR DIA		<input type="checkbox"/> PEQUENO <input type="checkbox"/> GRANDE			
CARACTERÍSTICA DAS FEZES					
<input type="checkbox"/> LÍQUIDAS <input type="checkbox"/> SEMI-PASTOSAS <input type="checkbox"/> COM MUCO <input type="checkbox"/> COM SANGUE					
PRESENÇA DE FEBRE					
<input type="checkbox"/> NÃO <input type="checkbox"/> < 38,5° <input type="checkbox"/> > 38,5° <input type="checkbox"/> NÃO MEDIDA					
DOR ABDOMINAL		DISTENSAO ABDOMINAL			
<input type="checkbox"/> NÃO <input type="checkbox"/> SIM		<input type="checkbox"/> NÃO <input type="checkbox"/> SIM			
PERDA DE PESO					
<input type="checkbox"/> NÃO <input type="checkbox"/> SIM					
SINAIS DE DESIDRATAÇÃO		SIM	NÃO	USO DE MEDICAMENTOS	
				MEDICAÇÃO	DOSE
OLHOS ENCOVADOS					
BOCA SECA					
CHORO SEM LÁGRIMAS					
TURGOR PASTOSO					
DIMINUIÇÃO DA DIURESE					
FREQUÊNCIA CARDÍACA		BAT/MINUTO			
PULSO					
<input type="checkbox"/> NORMAL <input type="checkbox"/> FINO					
ANTECEDENTES MÓRBIDOS (DIARRÉIA E OUTROS)					
OBSERVAÇÕES (CRECHE)					