ALVARO MACHADO DE AGUIAR

DIARREIA INFECCIOSA AGUDA

Contribuição para o estudo da etiologia, clínica e epidemiologia em crianças dos 0 aos 5 anos

ÁLVARO JERÓNIMO LEAL MACHADO DE AGUIAR

DIARREIA INFECCIOSA AGUDA

Contribuição para o estudo da etiologia, clínica e epidemiologia em crianças dos 0 aos 5 anos

DISSERTAÇÃO DE CANDIDATURA AO GRAU
DE DOUTOR APRESENTADA À FACULDADE
DE MEDICINA DO PORTO

PORTO
1 9 8 7

Artº 48º, § 3º - A Faculdade não responde pelas doutrinas expendidas na dissertação.
(Regulamento da Faculdade de Medicina do Porto, 29 de Janeiro de 1931 - Decreto nº 19.337)

À

Fernanda

à Ana e à Inês

A toda a minha Família

A quem devo
o que sei

CORPO CATEDRÁTICO
DA
FACULDADE DE MEDICINA DO PORTO

Professores Catedráticos

Doutor Alexandre Alberto Guerra Sousa Pinto
Doutor Amândio Gomes Sampaio Tavares
Doutor António Alberto Falcão de Freitas
Doutor António Augusto Lopes Vaz
Doutor António Carvalho de Almeida Coimbra
Doutor António Fernandes da Fonseca
Doutor António Fernandes Oliveira Barbosa Ribeiro Braga
Doutor António Germano Pina da Silva Leal
Doutot António Luís Tomé da Rocha Ribeiro
Doutor António Manuel Sampaio Araújo Teixeira
Doutor Artur Manuel Giesteira de Almeida
Doutor Cândido Alves Hipólito Reis
Doutor Carlos Rodrigo Magalhães Ramalhão
Doutor Carlos Sampaio Pinto de Lima

Doutor Casimiro Águeda de Azevedo
Doutor Celso Renato Paiva Rodrigues da Cruz
Doutor Daniel dos Santos Pinto Serrão
Doutor Eduardo Jorge Cunha Rodrigues Pereira
Doutor Fernando Carvalho Cerqueira Magro Gomes Ferreira
Doutor Francisco de Sousa Lé
Doutor João da Silva Carvalho
Doutor Joaquim Germano Pinto Machado Correia da Silva
Doutor Joaquim de Oliveira da Costa Maia
Doutor José Augusto Fleming Torrinha
Doutor José Carvalho de Oliveira
Doutor José Fernando Barros Castro Correia
Doutor José Manuel Costa Mesquita Guimarães
Doutor José Manuel Gonçalves Pina Cabral
Doutor José Pinto de Barros
Doutor Levi Eugénio Ribeiro Guerra
Doutor Luís António Mota Prego Cunha Soares Moura Pereira Leite
Doutor Manuel Augusto Cardoso de Oliveira
Doutor Manuel Fonseca Pinheiro Coelho Hargreaves
Doutor Manuel Machado Rodrigues Gomes
Doutor Manuel Maria Paula Barbosa
Doutor Manuel Miranda Magalhães
Doutor Manuel Teixeira Amarante Júnior
Doutor Maria da Conceição Marques e Magalhães
Doutor Mário José Cerqueira Gomes Braga
Doutor Norberto Teixeira Santos
Doutor Serafim Correia Pinto Guimarães
Doutor Valdemar Miguel Botelho dos Santos Cardoso
Doutor Victor Manuel Oliveira Nogueira Faria
Doutor Walter Friedrich Alfred Osswald

Professores Jubilados

Doutor Abel Sampaio da Costa Tavares
Doutor Albano dos Santos Pereira Ramos
Doutor António Martins Gonçalves de Azevedo
Doutor Carlos Ribeiro da Silva Lopes
Doutor Eduardo Esteves Pinto
Doutor João Costa
Doutor Joaquim José Monteiro Bastos
Doutor José Afonso Dias Guimarães
Doutor José Ruiz de Almeida Garrett
Doutor Júlio Machado Sousa Vaz
Doutor Manuel José Bragança Tender
Doutor Manuel Sobrinho Simões

Toda a minha vida profissional tem sido dedicada aos problemas da saúde da criança e, nos últimos anos, aos da patologia gastrintestinal em particular.

As altas taxas de morbilidade e mortalidade da diarreia aguda e a impossibilidade de, a maioria das vezes, conhecer a sua etiologia, há muito me preocupavam. De facto, entre nós, com largas faixas populacionais sofrendo de carências nutricionais e vivendo, ainda, em precárias condições socioeconómicas, a diarreia aguda assume lugar prioritário entre os problemas de Saúde Pública. No Hospital de S. João, no Porto, nos últimos cinco anos, foi motivo de internamento para cerca de 13% das crianças internadas e é, no nosso País, causa significativa de mortalidade nos primeiros cinco anos de vida.

A identificação da causa da diarreia é decisiva para o seu controlo clínico e epidemiológico. Embora um longo caminho tenha sido percorrido desde as explicações fantasiosas de Garcia de Horta para as epidemias de cólera no sec. XVI, que as atribuía a "excessos sexuais" e "ingestão excessiva de pepinos",[663] no início da década de 70, apenas em 20-30% dos doentes eram identificados, nas fezes, agentes infecciosos enteropatogénicos.[891] Desde então, tem sido feito importante trabalho no sentido de melhor caracterizar a etiologia, epidemiologia e patogénese da diarreia aguda, concretizado, nos últimos anos, em numerosas publicações. Foi definida a responsabilidade patogénica de cada agente bem como as características ecológicas e as do quadro clínico e da reacção imunológica que desencadeia.

O desenvolvimento, e a utilização cada vez mais generalizada, de técnicas imunológicas, serológicas, genéticas, microscópicas e de culturas de tecidos, tem permitido o diagnóstico etiológico num número crescente de casos e o melhor entendimento das características epidemiológicas e clínicas dos agentes enteropatogénicos. Consequentemente, têm criado novas perspectivas de actuação terapêutica e de prevenção. No entanto, e até à execução deste trabalho, o estudo clínico de rotina apenas nos tem permitido identificar agentes enteropatogénicos em cerca de 20% dos casos.[8] Assim, impunha-se a extensão dos novos conhecimentos ao estudo das "nossas" crianças.

Constitui, pois, o objectivo do presente trabalho esclarecer quais os agentes infecciosos responsáveis pela etiologia da diarreia aguda das crianças que, durante dois anos, se dirigiram à Consulta e ao Serviço de Urgência do Hospital de S. João, no Porto e valorizar, relativamente a cada um, alguns parâmetros clínicos, analíticos e epidemiológicos.

Propôs-me o Professor Tomé Ribeiro integrar um grupo de investigação por ele formado que se propunha estudar a etiologia infecciosa da diarreia aguda. Entusiasmado com a proposta do trabalho, logo discutimos e definimos a metodologia a utilizar. Faziam parte desse grupo técnicos conceituados e experientes: o Professor João Carlos de Sousa, responsável pelo Departamento de Microbiologia da Faculdade de Farmácia do Porto, e a Drª Fernanda Ferreira, Chefe de Serviço de Virologia do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, cuja excepcional competência garantia, no aspecto puramente microbiológico, o rigor da execução das técnicas e a fiabilidade dos resultados.

Contando sempre com a disponibilidade de todos aqueles a quem sucessivamente fui pedindo ajuda, a tarefa foi-se realizando, os resultados foram surgindo e, creio, os objectivos conseguidos: concluir um trabalho de investigação clínica que pudesse ser útil à comunidade que sirvo.

Não me arrogo do eventual mérito deste trabalho, doutros também pertença. A todos que nele colaboraram deixo aqui a minha gratidão, sabendo que guardo em mim o melhor do sentir da dívida.

- Ao Professor Norberto Teixeira Santos, de quem sempre recebi provas inequívocas de confiança profissional, como clínico e docente. O maior reconhecimento pelo tempo e interesse que quís dedicar à execução deste trabalho. A orientação na metodologia do estudo, a oportunidade das críticas durante a sua execução e a revisão do manuscrito, pelo saber e experiência de V.Exª, muito o valorizaram.

- Ao Professor Tomé Ribeiro. A V.Exª devo a proposta do tema, a criação do grupo de trabalho e as condições financeiras ao seu desenvolvimento. Sempre informado da evolução do estudo, foi um orientador atento e crítico. A V.Exª, a maior gratidão pelo acolhimento, afável e disponível, pelas palavras de estímulo, generosas e repetidas, pelo conselho, pronto e sábio, e pela revisão do manuscrito, inteligente e minuciosa.

- Ao Professor João Carlos. Quantas horas de trabalho!? Quantas noites e fins de semana!? Quase transformou o clínico que sou no Homem de laboratório que quase fui! A V. Exª devo muito do válido que este trabalho possa conter. Mas, mais do que isso, devo a motivação constante, o entusiasmo com que nele participou, a preocupação com a cuidada revisão e, mais importante, a doação do exemplo de docente dedicado ao ensino e à investigação que, ao longo destes anos, me habituei a admirar.

- Ao Professor Fleming Torrinha, pela amabilidade com que sempre me recebeu e pelas facilidades proporcionadas no Laboratório de Imunologia.

- Ao Professor Joaquim Maia, pela imprescindível orientação no tratamento estatístico dos resultados.

- À Senhora Dr.ª Fernanda Ferreira, pela disponibilidade e empenhamento que permitiram concretizar parte importante do estudo virológico.

- À Senhora Dr.ª Fernanda Oliveira, pela valiosa colaboração nos estudos efectuados em culturas celulares.

- À Senhora Drª Maria São José Nascimento, pela magnífica colaboração na pesquisa de vírus por microscopia electrónica.

- Ao Dr. Miguel Cabral, pela participação interessada na pesquisa dos factores de colonização nas estirpes de *Escherichia coli*.

- À Senhora Professora Helena Lourenço, pela electroforese do RNA do *Rotavirus* em gel de poliacrilamida

- Ao meu primo, Dr. António Bianchi, e mulher Maria Gabriela. Só os amigos dão tanto! Não agradeço a amizade. Reconheço-a e tentarei merecê-la.

- Ao Professor José Salcedo, e mulher Maria de Fátima, pela amiga e valiosa colaboração no processamento e composição do texto.

- Aos colegas do Serviço de Pediatria, de modo particular àqueles que mais de perto me acompanharam, o Prof. Mário Queirós e os Drs. Cardoso Rodrigues e Jorge Amil, um abraço amigo e reconhecido.

- À enfermeira Juliana Trancoso, e a todas as enfermeiras do Serviço de Pediatria que, de forma valiosa e diligente, colaboraram na execução deste trabalho.

- Aos colegas dos laboratórios do Hospital de S. João ou da Faculdade de Medicina do Porto, particularmente os Drs.Luís Delgado, Marinheira Monteiro, Vidal Pinheiro e Helena Cardoso, pelo interesse com que participaram neste trabalho.

- A todos os técnicos dos laboratórios onde trabalhei, especialmente às Senhoras D. Fernanda Santos e D. Laura Botelho e ao Sr. Anibal Bilhoto, por toda a colaboração prestada.

• • •

É magoado que, só *in memorium*, posso agradecer a meu Pai, exemplo de vida que o tempo não apaga, e ao Prof. Lopes dos Santos, mestre saudoso e amigo.

• • •

Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro da Fundação Calouste Gulbenkian, Universidade do Porto, INIC e Laboratórios Sigma.

ÍNDICE

Abreviaturas 16

I - **INTRODUÇÃO** 17
1. **Fisipatologia** 19
2. **Clínica** 21
3. **Factores prediponentes da diarreia** 22
3.1. Alimentação 22
3.2. Nutrição e condições sociais 23
3.3. Idade 24
4. **Etiologia** 24
4.1. Bactérias 26
4.1.1. *Escherichia coli* 26
4.1.1.1. *Escherichia coli* enteropatogénico 26
4.1.1.2. *Escherichia coli* enterotoxígeno 27
4.1.1.3. *Escherichia coli* enteroinvasivo 29
4.1.2. *Salmonella* 30
4.1.3. *Shigella* 31
4.1.4. *Yersinia enterocolitica* 32
4.1.5. *Campylobacter jejuni* 33
4.2. Vírus 34
4.2.1. *Rotavirus* 35
4.2.3. *Adenovirus* 40
4.3. *Candida albicans* 40
4.4. Parasitas 41
4.4.1. Helmintas 41
4.4.2. Protozoários 41

II - MATERIAL E MÉTODOS 43

III - RESULTADOS 57
1. Etiologia 59
1.1. Agentes identificados nas fezes 59
1.2. Estudo dos agentes etiológicos 60
1.2.1. *Rotavirus* 60
1.2.2. *Escherichia coli* 68
1.2.3. *Shigella* 73
1.2.4. *Salmonella* 73
1.2.5. *Campylobacter jejuni* 74
1.2.6. *Yersinia enterocolitica* 74
1.2.7. Outros agentes microbianos 74
1.2.8. Parasitas 74
1.2.9. Associação de agentes enteropatogénicos 74

2. Factores com provável influência na etiologia da diarreia 76
2.1. Condições climáticas 76
2.2. Idade e sexo 79
2.3. Alimentação 82
2.4. Situação nutricional 83
2.5. Situação social 85
2.6. Antibioterapia 91

3. Etiologia e expressão clínica 92
3.1. Duração da diarreia e número de dejecções no 1º dia de internamento 93
3.2. Duração total da diarreia 94
3.3. Modo de início 94
3.4. Contactos 94
3.5. Relação entre a etiologia da diarreia e a frequência e cronologia de aparecimento da sintomatologia associada 96
3.6. Perda de peso 101
3.7. Evolução da sintomatologia no internamento 102
3.8. Fezes 104
3.8.1. Aspecto macroscópico 104
3.8.2. Exame microscópico 108
3.8.3. pH e substâncias redutoras 111
3.8.4. Osmolalidade e electrólitos 113
3.8.5. Antitripsina alfa-1 115
3.8.6. IgA 116
3.9. Sangue 117
3.9.1. Electrólitos e osmolaridade 117
3.9.2. Ureia 120
3.9.3. Acido úrico 121
3.9.4. Glicose 122
3.9.5. Aminotransferases 123
3.9.6. Proteínas totais e fraccionamento electroforético 125
3.9.7. Imunoglobulinas 127
3.9.8. Hemograma 129

3.9.9. Proteínas de fase aguda 133
3.9.10. Acidose 136
3.10. Urina 136
3.10.1. Osmolaridade 136
3.10.2. Infecção urinária 138

4. Terapêutica 138
4.1. Antibióticos antes do internamento 138
4.2. Antibióticos no internamento 139
4.3. Fluidoterapia intravenosa 140
4.4. Plasma 140
4.5. Sangue 140

5. Tempo de internamento 141

IV - DISCUSSÃO 143

V - RESUMO E CONCLUSÕES 175
Summary and conclusions 185

VI - BIBLIOGRAFIA 193

ABREVIATURAS MAIS UTILIZADAS

[ ]	Concentração
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
CFA	Factor de colonização
EAEC	*Escherichia coli* enteroaderente
EIEC	*Escherichia coli* enteroinvasivo
ELISA	Método imunoenzimático
EPEC	*Escherichia coli* enteropatogénico
ETEC	*Escherichia coli* enterotoxígeno
Grupo I	272 doentes internados por diarreia aguda
Grupo II	60 doentes com diarreia tratados em ambulatório
Grupo III	60 crianças assintomáticas
ME	Microscopia electrónica
LT	Enterotoxina termolábil
***Rotav.*/bact. invas.**	Doentes com *Rotavirus* e bactérias invasivas
***Rotaav.*/EPEC**	Doentes com *Rotavirus* e EPEC
***Rotav.*/ETEC**	Doentes com *Rotavirus* e ETEC
***Rotavirus* c/s**	Doentes apenas com *Rotavirus* e seroconversão do título de anticorpos antirrotavírus
***Rotavirus* s/s**	Doentes apenas com *Rotavirus* e sem seroconversão do título de anticorpos antirrotavírus
s	Desvio padrão
ST	Enterotoxina termoestável
$\bar{x}$	Média

I — INTRODUÇÃO

Não obstante os progressos médicos significativos das últimas décadas, a diarreia aguda mantém-se responsável por taxas elevadas de morbilidade e mortalidade, muito particularmente entre as crianças. É problema importante de Saúde Pública em todo o mundo e constitui uma das grandes preocupações da OMS na concretização do grande objectivo " Saúde para todos no ano 2000" definido na conferência de Alma-Ata.[172] Após as infecções respiratórias é, nas crianças, a maior causa de morbilidade,[198] mesmo em países desenvolvidos.[537,825] A sua estreita associação à pobreza, insalubridade e ignorância obriga a classificá-la como doença social. De acordo com estimativa da OMS,[750] e confirmando os resultados de uma revisão de artigos publicados nos últimos 30 anos, nos países em desenvolvimento, cada criança, até aos 5 anos de vida, sofre, anualmente, 3 episódios de diarreia que causam a morte de 2% das com menos de 2 anos. Isto significa, cada ano, cerca de mil milhões de doentes e 4 a 5 milhões de mortes, 80% das quais em crianças nos dois primeiros anos de vida.[530]

Embora com maior incidência nas populações dos países em vias de desenvolvimento é, ainda, problema preocupante em sociedades mais prósperas.[499] Nos Estados Unidos da América do Norte, cada criança tem, em média, um episódio de diarreia no primeiro ano de vida;[320,423] um décimo destas crianças necessita de tratamento hospitalar.[568]

1. FISIOPATOLOGIA

Pela sua relação ecológica com o intestino é possível individualizar dois grupos de **bactérias patogénicas**: bactérias que, sem colonizar a parede do intestino, provocam diarreia por libertação de toxinas nos alimentos ou no lume intestinal (*Bacillus cereus*, *Clostridium perfrigens*, *Staphylococcus aureus*) e bactérias que, para serem patogénicas, colonizam o intestino, multiplicam-se e, então, elaboram toxinas e/ou invadem a mucosa (*Escherichia coli*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Yersinia* e *Vibrio cholerae*).

As bactérias enteropatogénicas, depois de ingeridas e de passar a barreira gástrica, entram em competição com a flora intestinal autóctene e resistem à remoção peristáltica fixando-se à parede do intestino. Para tal, muitas das bactérias Gram negativo possuem na sua superfície estruturas filamentosas, pili ou fímbrias de tipo I, que lhes permitem fixar-se às células da mucosa. Esta adesão é manose sensível e mediada por informação gené-

tica cromossómica.[189] Mas algumas estirpes de *Escherichia coli* enterotoxígeno (ETEC) possuem outros tipos de pili, CFA I e CFA II, manose resistentes e de produção codificada por plasmídeos transmissíveis a outras bactérias.[233,529]

Passada esta fase, algumas bactérias elaboram enterotoxinas que induzem a secreção intestinal de fluídos, facto pela primeira vez demonstrado em 1950 por De *et al.*[168] O mecanismo de acção da enterotoxina foi bem estudado no *Vibrio cholerae*:[297,663] activação irreversível do sistema adenilciclase, aumento do nível intracelular de cAMP que, através de uma proteinoquinase,[166] cataliza a fosforilação de proteínas membranosas das células da bordadura em escova, determinante último da resposta célular - bloqueio de absorção de Na^+ e Cl^- pelas células vilositárias e indução da excreção de Cl^- e HCO_3^- pelas células das criptas, sem alterar a absorção de Na^+ facilitada pela glucose ou a actividade de Na^+/K^+-ATPase da membrana basolateral celular.[244,249,286,533,621] Algumas estirpes ETEC produzem uma toxina termolábil (LT) com este mecanismo de acção.[297,663] No entanto, outras estirpes de ETEC elaboram uma toxina termoestável (ST)[741] que, actuando por activação do sistema guanilciclase e aumento da concentração intracelular de cGMP, provoca efeito semelhante, embora mais moderado, ao da toxina LT.[281,310]

Embora o *Vibrio cholerae* e a *Escherichia coli* tenham sido as mais bem estudadas, sabemos que outras estirpes bacterianas podem produzir enterotoxinas capazes de elevar o nível intracelular de cAMP (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Campylobacter*, *Salmonella e Shigella*)[99,189,191,283,314,422,514,613,641,695,717,779] ou de cGMP (*Yersinia enterocolitica*).[391,488,586,650,838]

Algumas estirpes de *Escherichia coli* enteropatogénicos (EPEC) produzem uma enterotoxina,[234,412,581] diferente das toxinas ST e LT que, como a toxina da *Shigella*, possui neurotoxicidade, citotoxicidade e enterotoxicidade.[412,581]

Em algumas estirpes EPEC, que não produzem enterotoxinas, foi demonstrada enteroaderência com alterações morfológicas específicas: atrofia de vilosidades e hipertrofia de criptas, resposta inflamatória na lâmina própria e adesão a protusões da membrana apical do enterócito que perde microvilosidades.[31,105,143,210,381,451,546,625,638,665,666,791]

As bactérias invasivas aderem às células epiteliais da mucosa intestinal lesando a bordadura em escova, invadem-nas e, no seu interior ou no de células do sistema reticuloendotelial, multiplicam-se. Originam uma reacção inflamatório local e, por vezes, lesões ulcerativas.[77,191,195,297,443,448,551,781,829,830,838] A excreção de fluídos que provocam apenas ocorre após a invasão e lesão da mucosa cuja permeabilidade, no entanto, nem sempre alteram. Tal facto leva a admitir a intervenção de outros factores. Assim, em alguns doentes, foi demonstrada elevação do nível intracelular de cAMP, ignorando-se se em consequência directa da invasão celular ou da produção posterior de enterotoxinas.[32,283,422,453,586,...613,695,717]

Na diarreia por algumas espécies bacterianas invasivas as alterações não se limitam ao intestino delgado. Atingem, também, o cólon, onde provocam enteropatia exsudativa e diminuição da capacidade de absorção.[848]

As células vilositárias infectadas por **vírus** são destruídas e descamadas para o lume intestinal. A mucosa responde à infecção com aumento da actividade mitótica das células das criptas que atingem a superfície vilositária ainda imaturas, com pouca actividade dissacaridásica e reduzida capacidade de absorção de cloro e sódio, facilitada ou não pela glucose.[9,85,159,161,184,328,398,402,472,473,660,713,745,780] Os enterócitos lesados têm menor actividade da ATPase Na^+/K^+ da membrana basal lateral, sem alteração do nível intracelular de cAMP.[9,51,328,388,398,402,472,473,780,877]

Parasitas podem causar diarreia por lesão directa e infiltração inflamatória da mucosa intestinal ou indirecta, integrada na resposta imunológica do hospedeiro.[73,455,495,623,690,785,871,873] Para a patogénese da diarreia por parasitas podem contribuir outros factores: diminuição da superfície de absorção quando o parasita adere, em grande número, à parede do intestino, interacção com a flora autóctene, alterações da motilidade intestinal, libertação intraluminal de metabolitos e enteropatia exsudativa.[413,479,481,726,785,873]

2. CLÍNICA

O diagnóstico de diarreia aguda é clínico. Conhecida a grande diversidade, dentro da normalidade, dos hábitos intestinais das crianças, é difícil estabelecer diagnósticos fundamentados apenas no número de dejecções e nas características das fezes. Mais importante é a valorização de modificações súbitas do aspecto habitual das fezes: mais líquidas, abundantes e em maior número de dejecções.

Diarreia e vómitos são sintomas frequentes em algumas patologias infantis, particularmente infecções urinárias, respiratórias e otite média aguda, que devem ser sempre procuradas.

Na diarreia aguda infantil, o intestino delgado é o orgão mais afectado mas, com importância variável, podem também estar envolvidos o estômago e o cólon. O quadro clínico e a composição das fezes podem reflectir a gravidade e extensão da área intestinal mais lesada. Na maioria dos doentes, a sintomatologia clínica e analítica não pemite o diagnóstico etiológico da diarreia, embora alterações de alguns parâmetros estejam mais vezes associados com determinados agentes enteropatogénicos.

A diarreia surge, quase sempre, de forma súbita, muitas vezes acompanhada de vómitos que podem ser o sintoma dominante na infecção por *Rotavirus*[139,456,489,501,618,659,...,703,850] e não ocorrerem na diarreia por *Shigella*.[849] Hipertermia, possível em doentes com diarreia de todas as etiologias, é mais frequente na diarreia por bactérias invasivas, particularmente *Salmonella*, *Shigella* e *Campylobacter*.[493] Muitas crianças, independentemente da etiologia, têm sintomatologia respiratória;[117,340,489,501,659,837] alguns autores, no entanto, observaram-na mais vezes na diarreia por *Rotavirus*.[110,118,293,320,369,456]

A observação macroscópica das fezes pode, embora raramente,[501] proporcionar alguma informação: a coloração branca é mais frequente na diarreia por *Rotavirus*,[489,801] dejecções líquidas e abundantes são comuns na diarreia por bactérias enterotoxígenas e a presença de muco ou sangue sugere a responsabilidade de bactérias invasivas.[72,96,130,188,297,341,391,394,496,542,638,659] A pesquisa de leucócitos nas fezes pode constituir elemento útil para o diagnóstico etiológico: a sua negatividade, rara na diarreia por bactérias invasivas,[315,331,483,526,608,708,771] é frequente na diarreia por vírus.[139,501,673]

As fezes diarreicas têm maior concentração de electrólitos que as fezes normais. Porém, enquanto a subida do teor de K^+ é independente da etiologia da diarreia,[480,543] os teores de Na^+ e de Cl^- são significativamente mais elevados na diarreia provocada por bactérias produtoras de toxinas.[179,277,543,622,782]

Em fezes líquidas, a determinação do pH e a pesquisa de substâncias redutoras permitem identificar má absorção de carbohidratos,[159,459] mais frequente e prolongada na diarreia por *Rotavirus*.[139,159,369,489,562,680,685]

Desidratação aguda, desiquilíbrio hidroelectrolítico e ácido-básico, insuficiência renal aguda e enteropatia exsudativa são complicações habituais da diarreia aguda.

Os sinais clínicos de desidratação - sede, oligúria, secura da pele e das mucosas, diminuição da turgescência dos tecidos e perda de peso - permitem identificar e caracterizar a importância da desidratação.

Em crianças com diarreia prolongada ou com desidratação grave, o doseamento de electrólitos e dos gases do sangue pode ser decisivo na orientação das atitudes terapêuticas. A desidratação hipernatrémica, com [Na^+] maior ou igual a 150 mEq/l, é uma complicação frequente da diarreia aguda, particularmente em crianças com factores predisponentes: prematuridade, hipertermia prolongada, hiperventilação, vómitos persistentes ou ingestão de alimentos com excesso de soluto.[849] Hiponatremia, [Na^+] igual ou inferior a 130 mEq/l, e hipokaliemia, [K^+] igual ou inferior a 3.5 mEq/l, são mais frequentes em crianças malnutridas.[849]

Crianças com diarreia aguda têm, muita vezes, acidose metabólica[340,659] mas, de acordo com a etiologia, por mecanismos de importância diversa: insuficiência renal funcional, hiperlacticidemia e perda fecal de bicarbonatos predominam na diarreia por bactérias enterotoxígenas e, degradação bacteriana de carbohidratos não absorvidos na diarreia por agentes que lesam a mucosa intestinal com redução de actividade das dissacaridases.[358,459,489,562,685]

Crianças com desidratação grave têm insuficiência renal funcional e subida do valor sérico de ureia[360,659,765,818] que rapidamente desaparecem após a hidratação.

Hiperglicemia[491,696,767] e hiperuricemia[2,345,427,457] são alterações frequentemente observadas em crianças com diarreia aguda.

Alguns autores têm referido subida de aminotransferases séricas em crianças com diarreia aguda, particularmente na diarreia por *Rotavirus*.[185,387,427,579,782]

A enteropatia exsudativa que, por vezes, acompanha a diarreia infecciosa aguda[146,486,685] e agrava o défice nutricional em crianças malnutridas, pode ser avaliada pelo doseamento do teor fecal de antitripsina alfa-1.[45,146,483,799]

3. FACTORES PREDISPONENTES DA DIARREIA

A prevenção da diarreia baseia-se, fundamentalmente, em características epidemiológicas: distribuição no tempo e lugar, susceptibilidade individual e mecanismos de transmissão. Variações sasonais, associação com insalubridade e ignorância, apetência pelas crianças e via de transmissão fecal-oral são aspectos fundamentais. Medidas que prolonguem o aleitamento materno e proporcionem alimentação equilibrada, melhorem a sanidade do ambiente e estimulem o conhecimento e prática de princípios elementares de higiene, diminuindo assim as oportunidades de contaminação de crianças vulneráveis, contribuirão para reduzir o número e gravidade dos episódios de diarreia.

3.1. - Alimentação

Nas crianças alimentadas com leite materno, tipo de alimentação do lactente cuja superioridade sobre os outros não permite dúvidas fundamentadas, é menor a incidência e a gravidade da diarreia infecciosa, particularmente em comunidades socialmente menos favorecidas.[43,108,126,155,156,241,243,262,287,330,364,365,409,435,436,438,464,467,585,734,760,772,855,857]

A protecção conferida pelo leite materno é particularmente importante no lactente durante o hiato imunológico e até à produção de mecanismos próprios de defesa contra a colonização do tubo digestivo por germes patogénicos. Entre os componentes do colostro e leite maternos que contribuem para esta protecção, os anticorpos IgA e IgM, com níveis particularmente elevados no colostro e específicos para quase todos os agentes enteropatogénicos, são os mais importantes: conferem imunidade intestinal local e condicionam a proliferação de vírus, bactérias ou parasitas.[18,30,108,291,435,883] Além disso, o leite e colostro humanos contêm um conjunto de factores de resistência com capacidade inibidora ou lítica sobre a maioria dos agentes infecciosos enteropatogénicos: lactoferrina, lisozima, sistema lactoperoxidase, interferão, factores promotores do crescimento do *Bifidobacterium bifidum*, componentes do sistema do complemento, factor anti-*Staphylococcus*, proteínas fixadoras da Vit. B12, dos folatos e do ferro que limitam a sua disponibilidade para as bactérias, e receptores celulares epiteliais capazes de impedir a fixação de agentes agressores à mucosa intestinal.[104,150,264,291,330,502,503,584,892] Os ácidos gordos livres e monoglicerídeos,[275] a actividade inibidora da tripsina,[689,843] o interferão e a lípase[892] têm particular acção contra *Rotavirus*.

O leite e colostro humanos contêm ainda vários tipos de células que intervêm na defesa contra a agressão. Entre estas células destacam-se os macrófagos por serem as mais abundantes, embora a sua concentração rapidamente diminua no decurso do aleitamento: sintetizam C3, C4, lisozima e lactoferrina,[290,892] estimulam a síntese de IgA pelos plasmócitos[264] e possuem acção fagocítica para *Staphlylococcus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*. Outras células importantes são os linfócitos T e B, capazes de resposta imune funcionalmente eficaz.[506] Têm concentração no leite igual à sanguínea, mas comportamento diferente: segregam activamente imunoglobulinas, particularmente IgA, as quais podem fixar-se, por longos períodos, à parede intestinal, promover a aglutinação de bactérias e neutralizar vírus e complexos proteicos alimentares.

Embora nem sempre confirmados,[275] estudos recentes mostraram que a adição ao leite industrial de leite humano, ou mesmo de leite de vaca fresco em que alguns destes factores de protecção estão ausentes ou existem em quantidades mínimas, diminui o risco, no recém nascido, de infecções enterais.[564]

Os factores de protecção contidos no leite materno aumentam a actividade dos anticorpos e constituem mecanismo de defesa na sua ausência ou ineficácia.[637] Embora possam ser de pouca relevância para lactentes eutróficos criados em boas condições de higiene, são importantes para os de baixo peso e para crianças de áreas socialmente desfavorecidas.

É curioso não se verificar qualquer alteração significativa da qualidade e capacidade imunológicas do leite em mulheres malnutridas.[506]

A importância do aleitamento materno na prevenção da diarreia resulta não apenas da composição do leite mas também, e de forma importante, da menor probabilidade dos lactentes ingerirem alimentos contaminados.[54] O momento de diversificação do regime alimentar, coincidindo frequentemente com o abandono do aleitamento materno e consequente perda da sua acção protectora, é um período de maior susceptibilidade à infecção intestinal.[295,313,409,507,715,762]

3.2. - Nutrição e condições sociais

Infecções com evolução grave e prolongada são mais frequentes em crianças malnutridas e podem afectar a sua situação nutricional.[55,87,88,120,203,313,507,715,716,790,819] Esta

associação sinérgica é bem demonstrada relativamente à diarreia infecciosa.[55,121,122,357,362,378,425,467,505,602]

O défice energético-proteico, ou as carências isoladas de alguns nutrientes, são as causas mais comuns de imunodeficiência.[864] De facto, crianças com deficiência nutricional têm população linfóide reduzida, compromisso da imunidade celular e do sistema do complemento, menor afinidade dos anticorpos e menor produção e eficácia dos anticorpos secretores, bem como dos fagócitos e da lisozima.[121,122,123,126,127,128,269,326,506,635,864] No tubo digestivo, outras alterações contribuem para a maior sobrevida e mais fácil adesão, colonização e invasão de agentes causadores de diarreia: modificações estruturais das células, nomeadamente das vilosidades, com demora no seu processo de renovação e menor actividade das dissacaridases, hipocloridria gástrica, diminuição da motilidade intestinal, baixa produção de IgA secretora, absorção deficiente de nutrientes, alterações da flora autóctene e excesso de ácidos biliares não conjugados no intestino proximal.[87,240,269,317,506]

Estas alterações são, geralmente, rapidamente reversíveis com a recuperação nutricional, embora possam persistir durante vários anos quando ocorrem em recém nascidos malnutridos.[121,124]

As carências nutricionais só raramente são um problema isolado. As más condições sanitárias, os grandes agregados familiares, as más condições socioeconómicas e os baixos padrões culturais são acompanhantes frequentes e, muitas vezes, importantes contribuintes do défice nutricional e da infecção. Disseminando-se os agentes infecciosos causadores de diarreia, habitualmente, por via fecal-oral, directamente ou por intermédio da água, alimentos ou objectos contaminados, é evidente a influência das condições socioeconómicas e sanitárias na incidência da diarreia.

3.3. - Idade

A incidência e gravidade da diarreia são maiores nas crianças de menos idade, particularmente nos lactentes, para o que contribuem vários factores: o abandono do aleitamento, que as priva da protecção proporcionada pelo leite materno, a imaturidade e a menor capacidade de mobilização dos mecanismos de defesa intestinais, imunológicos ou não, e a labilidade do equilíbrio hidroelectrolítico resultante da relativa ineficácia de alguns sistemas de transporte nas estruturas em desenvolvimento que, adequados em circunstâncias normais, têm reduzida capacidade de compensação em situações de doença.[297,301,329]

4. ETIOLOGIA

Em 1789, nos Estados Unidos da América, no primeiro estudo sistemático conhecido da diarreia infantil, Benjamin Rush escrevia "...a sua frequência e perigo são sempre proporcionais ao calor ambiente..."[648] Logo outras descrições pormenorizadas da diarreia surgiram na Europa sob a designação de doença de Rush.[24] Em 1889, investigações epidemiológicas[813] admitem a sua origem infecciosa relacionando-a com o tempo quente ("doenca do verão", "diarreia do verão").[24,144,192,812,813] Estudos realizados em 1900 e 1910 mostram que "... a diarreia é particularmente prevalente nos dois primeiros anos de vida,

particularmente durante a diversificação alimentar, que o leite materno protege contra a doença e, especificamente, contra a morte a ela associada e que é mais comum em crianças com situação socioeconómica desfavorecida e...".[813] Assim se entende que a morbilidade e a mortalidade da diarreia nos países em desenvolvimento seja, actualmente, sobreponível à observada em New York no início deste século quando as condições sociais da população eram semelhantes às que neles ainda se verificam.[450]

Com a melhoria das condições sociais a sasonalidade da diarreia foi desaparecendo. Já em 1939 Smellie[739] dizia que "...depara-se-nos agora uma doença de etiologia mista presente ao longo de todo o ano, no Verão e no Inverno..." Curiosamente, nos países em desenvolvimento é ainda evidente a sasonalidade da diarreia.[651]

Embora de natureza epidémica, de distribuição universal e com elevada mortalidade, a etiologia da diarreia era desconhecida. A sua maior incidência no período de desmame, nos animais e no Homem, e a incapacidade de encontrar agentes patogénicos responsáveis na maioria dos casos, contribuiram para responsabilizar alterações alimentares como sua causa.[504] Somente nos surtos epidémicos de 1930 e de 1940, *Proteus*, *Salmonella* e bactérias toxígenas não caracterizadas são propostos como agentes causais.[47,141,147,521] Em 1943, Light e Hodes[460,461] demonstraram um agente filtrável nas fezes, mais tarde revelado como *Rotavirus*.[342] Em 1945 Bray atribui a *Escherichia coli* a etiologia de surtos de diarreia.[84]

Nas últimas décadas, muitos agentes infecciosos foram responsabilizados e identificados os mecanismos de indução da diarreia. Para tal contribuíram os progressos no conhecimento dos mecanismos intestinais de transporte enzimático e da imunologia da mucosa intestinal e o desenvolvimento de novos processos técnicos e bioquímicos. Surge assim, nos primeiros anos da década de 70, a identificação de vírus como causa de diarreia e a demonstração de toxinas em algumas estirpes bacterianas.

A diarreia aguda pode estar associada a patologia variada: erros inatos de metabolismo, alergia e intolerância alimentar, agressão química ou osmótica do intestino, doenças sistémicas, doenças inflamatórias intestinais, doenças cirúrgicas, tumores secretores e doenças psicossomáticas. Porém, como resultado de progressos no diagnóstico microbiológico, tem-se demonstrado, como aliás se suspeitava, que a infecção intestinal por vírus, bactérias ou parasitas ocupa o primeiro lugar entre as causas responsáveis pela diarreia aguda infantil. Alguns factos suportavam este conceito: maior frequência de diarreia em ecossistemas com carências sanitárias, educacionais e de higiene pessoal, verificação de novos casos de diarreia com comportamento sugestivo de disseminação directa ou indirecta, diminuição, com a idade, da incidência da diarreia, sugerindo o desenvolvimento de imunidade, e a demonstração nas fezes, em cerca de 70% dos casos, de um agente patogénico.[504]

A lista de agentes enteropatogénicos é já longa e continua a crescer. Há 15 anos, a percentagem de casos de diarreia aguda infantil com etiologia conhecida oscilava entre 10 e 20%.[630] Actualmente, o emprego de novas técnicas de investigação faz com que se consiga a identificação do agente causal em 60 a 70% dos doentes.

Os agentes infecciosos causadores de diarreia são os mesmos em todo o mundo, embora a sua incidência varie de região para região.[428] Para alguns, a relação directa com a diarreia está bem estabelecida enquanto que, para outros, a identificação é esporádica ou ainda controversa a acção. Limitar-nos-emos, em seguida, a caracterizar aqueles com maior prevalência e responsabilidade etiológica bem definida.

4.1. - BACTÉRIAS

Até aos primeiros anos da década de 70, o conhecimento da etiologia bacteriana da diarreia aguda era limitado a um pequeno número de espécies: *Vibrio cholerae*, *Shigella sp.*, *Salmonella sp.*, *Staphilococcus aureus*, certos serotipos de *Escherichia coli* e *Vibrio parahaemolyticus*. São todos agentes facilmente cultiváveis mas que hoje sabemos serem responsabilizados apenas por cerca de 20% dos episódios de diarreia infecciosa.

Entretanto, foi-se confirmando a importância de outras estirpes bacterianas:[416,682,737,741] *Escherichia coli* enterotoxígenos (ETEC), *Escherichia coli* enteroinvasivos (EIEC), *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni* e, mais raramente, *Bacillus cereus*, *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium difficile* e *Clostridium perfringens*.

4.1.1. - *ESCHERICHIA COLI*

Completou-se, em 1985, um século sobre a sua identificação pelo pediatra Escherich, quando procurava agentes etiológicos em crianças com diarreia aguda.[225] Por que é habitante normal do intestino, só muito mais tarde, certos serotipos, pela frequência de isolamento em surtos epidémicos de diarreia em enfermarias de recém-nascidos e lactentes ou em episódios esporádicos de diarreia na comunidade, se tornaram suspeitos de patogenicidade e foram caracterizados antigenicamente e agrupados, por proposta de Neter,[569] sob a designação genérica de *Escherichia coli* enteropatogénicos [EPEC].

Mais recentemente, ao ter-se verificado que algumas estirpes de *Escherichia coli* elaboravam enterotoxinas e que outras possuíam capacidade invasiva, individualizaram-se dois outros tipos: *Escherichia coli* enterotoxígenos [ETEC] e *Escherichia coli* enteroinvasivos [EIEC].

4.1.1.1. - *Escherichia coli* enteropatogénico (EPEC)

A designação *Escherichia coli* enteropatogénico é actualmente entendida como englobando as estirpes causadoras de diarreia aguda, não produtoras de toxina termoestável (ST) ou termolábil (LT), não invasoras da mucosa intestinal e pertencentes a serotipos clássicos.[210] As estirpes EPEC classificaram-se, inicialmente, pela identificação serológica dos antigénios da superfície bacteriana (O-somáticos; K-capsulares). São conhecidos cerca de 160 antigénios O, dos quais apenas alguns serogrupos, com predomínio de O26, O55, O86, O111, O119, O125, O127 e O128ab e, menos vezes, O44, O114, O124, O142 e O158, são causa de diarreia no Homem.[4,64,234,239,245,318,451,458,649,669,791,810] Orskov *et al.*[591] demonstraram que os antigénios K não eram material capsular mas uma região termossensível do antigénio O. Por este motivo, os clássicos serotipos O:K devem ser reavaliados e definidos os novos serotipos O:H das estirpes EPEC.[454] Assim, por exemplo, *Escherichia coli* O86 é frequentemente identificado na flora entérica normal mas só o serotipo O86:H34 deve ser considerado EPEC. Contudo, a avaliação dos serotipos de *Escherichia coli* associados a diarreia infantil é bastante díficil pois os soros comerciais disponíveis continuam a usar o sistema O:K.[454]

A impossibilidade de demonstrar produção de enterotoxinas ou capacidade invasiva nas estirpes EPEC, mecanismos mensuráveis da patogenicidade noutras estirpes de *Escherichia coli*, gerou desacordo entre microbiologistas e epidemiologistas sobre a sua importância etiológia e levou mesmo ao abandono, por muitos laboratórios, da sua serotipagem como rotina.[104,267,356,451] Uns negavam-lhe patogenicidade

admitindo, no entanto, poderem ser portadoras acidentais de plasmídeos enterotoxígenos ou invasivos que perderiam em cultura.[267,686] Outros afirmavam serem as estirpes EPEC tipos diferentes de *Escherichia coli* capazes de provocar diarreia por mecanismo específico, independente da invasão celular ou da produção de toxinas ST ou LT.[308]

A partir de 1978[565] ressurgiu o interesse pela sua patogenicidade e epidemiologia e passaram a ser aceites como tipos distintos de *Escherichia coli* com mecanismo patogénico próprio que envolve enteroaderência ou produção de toxina"*Shigella*-like".[210,213,451,474,546,625,666] Estas populações de *Escherichia coli* aderem intimamente ao enterócito do íleon distal e do cólon,[395] que não invadem, provocando dissolução das vilosidades e pregueamento da membrana do enterócito, lesões histológicas específicas e visíveis à microscopia electrónica.[31,105,143,210,451,546,625,638,665,666,791] A enteroaderência, demonstrada na maioria das estirpes EPEC, particularmente nos serogrupos O111, O119 e O125[138,177,565,665,828] é também, embora muito raramente, evidenciada por estirpes de *Escherichia coli* não EPEC causadoras de diarreia.[143,191,431,509,511] Por esta razão, alguns autores sugerem a individualização de um novo grupo patogénico: *Escherichia coli* enteroaderente (EAEC).[297,508,510,511] De mediação plasmídica[31,452] e sem intervenção de pili,[714] a enteroaderência pode ser posta em evidência, in vitro, usando culturas celulares HEp-2 ou HeLa.[138,208,210,665] A aderência aos enterócitos, que por si não é causa de doença, pode desencadear produção focal de citotoxinas responsável pela alteração ultraestrutural do enterócito.[638]

Algumas estirpes EPEC dos serogrupos O26, O128 e O157[234,412,581] produzem uma enterotoxina diferente das toxinas ST e LT mas, aparentemente, idêntica à da *Shigella*: exibe neurotoxicidade, citotoxicidade e enterotoxicidade, efeitos neutralizados por antissoros preparados contra a toxina da *Shigella*.[412,581] A colite hemorrágica, associada ao serogrupo O157,[368,645] e o síndrome urémico-hemolítico, associado a algumas estirpes de *Escherichia coli*, particularmente O26 e O157,[395,582] são situações em cuja patogénese parece ser determinante a acção da toxina *Shigella*-like cuja presença pode ser evidenciada, in vitro, pelo efeito citotóxico em células VERO.[395,421]

4.1.1.2. - *Escherichia coli* enterotoxígeno (ETEC)

Nas estirpes ETEC são conhecidos dois factores decisivos de virulência: a produção de enterotoxinas e os factores de colonização (CFA).

4.1.1.2.1. - Enterotoxinas

As estirpes ETEC produzem duas enterotoxinas, de forma isolada ou concomitantemente,[682,687,768] com características diferentes: toxina termolábil (LT), estreitamente relacionada, antigénica e fisiologicamente, com a toxina do *Vibrio cholerae*,[297,663] e a toxina termoestável (ST).

A toxina termolábil LT, com a massa molecular de 92000 daltons e fortemente antigénica, é um polímero de duas subunidades, A e B.[350] A subunidade A provoca a activação do sistema adenilcíclase condicionando aumento dos níveis intracelulares de cAMP, determinante da resposta biológica específica da célula exposta: bloqueio de absorção de Na^+ e Cl^- pelas células vilositárias e indução da excreção de Cl^- e HCO_3^- pelas células das criptas. Não altera a absorção de Na^+ cotransportado com a glucose nem a actividade de Na^+/K^+-ATPase da membrana basolateral

celular.[244,249,286,533,621] A subunidade B, cinco por molécula de toxina, é o ligando responsável pela fixação ao gangliosídeo GM1 da membrana celular.[348] A toxina LT provoca diarreia sem concomitante lesão do epitélio. A sua presença pode ser demonstrada em células adrenais Y1, CHO e VERO,[311] cuja fisiologia e morfologia modifica.

Em 1967, Smith[741] refere em algumas estirpes enteropatogénicas de *Escherichia coli* uma outra toxina, a toxina ST, com a massa molecular de 2000 daltons,[10] de pouca capacidade antigénica e resistente à ebulição. Embora o seu mecanismo de acção seja menos conhecido, sabe-se que activa o sistema guanilcíclase aumentando a concentração intracelular de cGMP,[282,310,312,632,633] com modificação do fluxo do cálcio e elevação dos níveis intracelulares da calmodulina.[176,310] A toxina ST alteraria os mecanismos de transporte do cálcio através da membrana celular provocando o aumento dos seus níveis intracelulares e subsequente activação da calmodulina e da síntese das prostaglandinas, as quais seriam responsáveis pela estimulação do sistema guanilcíclase. A acção da toxina ST na inibição da absorção de sódio e cloro é semelhante à da toxina LT,[281,310] mas o efeito é muito menor na estimulação da secreção de Cl^- e HCO_3^-, causando perdas intestinais menos graves.[297] Os receptores celulares para a toxina ST distribuem-se ao longo de todo o intestino delgado e a sua acção biológica provoca alterações do peristaltismo intestinal sem provocar danos celulares.[191]

O método do ratinho recém nascido continua a ser o mais citado para a sua identificação.[550]

A síntese das toxinas LT e ST é regulada por genes plasmídicos.[687]

Por que a produção de toxinas LT e ST tem sido mais vezes observada em alguns serogrupos de *Escherichia coli*[60,238,528,590,592] particularmente O6, O8, O25, O78,[209] foi proposto o seu rastreio com antissoros polivalentes e o abandono dos métodos complexos de identificação das toxinas.[529] Porém, a prevalência de estas toxinas em outros serogrupos, descrita em várias partes do mundo, limita o interesse prático desta metodologia.[46]

4.1.1.2.2. - Factores de colonização

A aderência das bactérias patogénicas à mucosa intestinal é decisiva na génese da diarreia. Interacções moleculares entre receptores celulares e estruturas filamentosas proteicas da superfície bacteriana, morfologicamente identificadas como pili ou fímbrias, determinam o local específico da infecção, impedem a remoção das bactérias pelos mecanismos de defesa intestinal e facilitam a colonização entérica.[395] Não é característica exclusiva das bactérias patogénicas pois constitui um factor importante no estabelecimento da flora autóctene.[104,611]

As estirpes ETEC, para causarem diarreia, devem possuir fímbrias ou pili CFAI e CFAII, mediados por plasmídeos[233,424,609,740] e responsáveis pela aderência específica das bactérias às células epiteliais do intestino delgado.[104,231,233,236,415,565] Estes pili ou fimbrias podem caracterizar-se morfologicamente e por perfís de hemaglutinação de eritrócitos de diferentes espécies animal: os pili CFAI hemaglutinam eritrócitos de sangue humano (tipoA), de boi e galinha, enquanto que os pili CFAII aglutinam apenas eritrócitos de boi e galinha em presença de manose ou derivados.[234]

A produção de CFAI está mais vezes associada aos serogrupos O15, O25, O63, O78 e O128 e a de CFAII aos serogrupos O6, O8, O80, O85 e O139.[60,143,178,233,236,307,528,557,592,636,769,800] As fímbrias CFA II compreendem um grupo bastante heterogéneo, antigénica e estruturalmente. Porém, a produção de CFA não é exclusiva das estirpes ETEC. A estreita correlação entre as estirpes ETEC causadoras de diarreia humana e a presença de CFA, observada nos Estados Unidos da América do Norte,[196] somente foi confirmada em 7% das estirpes ETEC num estudo que incluiu 14 países europeus.[307] Alguns autores admitem, no entanto, que estirpes ETEC portadoras de CFA causariam diarreias mais graves.[769]

4.1.1.3. - *Escherichia coli* enteroinvasivos (EIEC)

Estas populações de *Escherichia coli*, reconhecidas pela primeira vez em 1967,[630] têm sido implicadas em casos esporádicos ou epidémicos de diarreia em crianças da segunda infância e em adultos.

Constituem um grupo estreitamente relacionado com *Shigella sp.*, quer bioquimicamente quer pelo tipo de diarreia que provocam.[104,731] Invadem e destroiem células da mucosa do intestino delgado distal, provocando ulcerações, e causam diarreia de fezes com sangue, muco e pús.[764] A sua patogénese envolve mecanismos de aderência[104] e de produção de enterotoxinas,[581,640] cuja expressão é codificada por genes plasmídicos e cromossómicos,[280] que podem por-se em evidência, in vitro, usando culturas de células HeLa[607] ou o teste de Sereny.[720]

As estirpes de EIEC pertencem, habitualmente, aos serogrupos O28, O29, O42, O112, O124, O136, O147, O144 e O152,164.[211,234]

4.1.1.4. - Epidemiologia

As estirpes EPEC, cuja incidência diminuiu, drasticamente, nos últimos anos, nos países industrializados onde, no entanto, ainda são causa de surtos epidémicos esporádicos,[429,487,619] continuam a ser agentes patogénicos importantes de diarreia endémica nos países em desenvolvimento,[555,638,718,769] com particular apetência para os lactentes com idade inferior a 6 meses.[638,710] Porém, em alguns estudos, a elevada frequência de isolamento de estirpes EPEC em crianças assintomáticas põe em dúvida a sua importância etiológica.[356,542]

Alguns aspectos da epidemiologia e importância clínica das estirpes ETEC são ainda mal entendidos[769] e constituem uma das prioridades do programa da WHO para o controlo da diarreia.[867] A sua prevalência como agente causador de diarreia aguda é elevada, entre 8 e 26%, em países com deficientes padrões sanitários.[59,95,167,186,206,235,265,296,313,407,482,501,542,582,636,689,712,718,752,759,768,769,844]

Nos países industrializados, embora sejam o principal agente da diarreia dos viajantes,[689] são causa pouco frequente de diarreia infantil.[482,487,501,582] A sua incidência parece não ter variações sasonais[106,768] e, embora afecte todos os grupos etários, é maior nas crianças, particularmente nos lactentes.[58,297] É causa importante de infecções nosocomiais.[297] A água e os alimentos são o meio de contaminação habitual.[492,664]

Entre as estirpes ETEC, nem sempre é observado o predomínio, generalizadamente referido,[235,265,501,528,619,636] de estirpes ETEC LT$^+$.[769]

O isolamento de estirpes ETEC nas fezes não é, por si, suficiente para as responsabilizar pela etiologia da diarreia, pois é frequente em crianças assintomáticas.[186,-

[206,265,636,769] Mas alguns autores não concordam com esta opinião e consideram-nas sempre como patogénicas.[265,619]

As estirpes EIEC só ocasionalmente são responsabilizadas pela diarreia aguda.[4,268,373,487] Disseminam-se pela água e outros alimentos,[492] sendo potencialmente patogénicas mesmo se ingeridas em pequeno número que, no entanto, é superior ao requerido pelas estirpes de *Shigella sp.*.[297]

4.1.1.5. - Clínica

A expressão clínica da doença por *Escherichia coli* é influenciada pelo mecanismo enteropatogénico responsável.

A diarreia por EPEC é, habitualmente, de fezes aquosas, abundantes, por vezes com muco ou sangue, acompanhada de vómitos e hipertermia.[638] Quando estão envolvidas toxinas, a diarreia é relativamente benigna, sem febre, de tipo secretor, com fezes líquidas, abundantes, de baixa osmolalidade e elevado conteúdo de Na^+ e Cl^-, raramente contendo leucócitos.[542,684,689,769,867] Se há invasão celular, com lesão da mucosa, a diarreia terá características de um síndrome disenteriforme, com dejecções múltiplas e pouco volumosas, contendo sangue, muco e pús e associadas a dores abdominais, tenesmo e hipertermia.

4.1.2. - *SALMONELLA*

Embora se conheçam mais de 1600[518] serotipos de *Salmonella*, apenas um pequeno número tem sido isolado em fezes diarreicas.

4.1.2.1. - Patogénese

As estirpes de *Salmonella* aderem ao epitélio intestinal, lesam a bordadura em escova[297,781] e invadem o epitélio particularmente ao nível das placas de Peyer.[111,343] Atingem a lâmina própria onde desencadeiam reacções inflamatória ricas em macrófagos e neutrófilos, dentro dos quais, após fagocitose, se multiplicam, causando alterações morfológicas pouco significativas[198] e, raramente, ulcerações.[297] A infecção localiza-se, sobretudo, na porção distal do intestino delgado e no cólon e limita-se à mucosa.[667] Porém, em lactentes ou crianças debilitadas, pode causar septicemia. A capacidade de aderência e de invasão das estirpes de *Salmonella*, não devidas a pili e associadas a um plasmídeo,[370] podem observar-se, in vitro, usando culturas de células HeLa.[279,371,539,732]

A secreção excessiva de fluidos, para a qual é indispensável a invasão da mucosa, resulta da exsudação e transudação através do epitélio lesado e permeável.[261] Ignora-se se a elevação de cAMP, algumas vezes observada, será consequência da invasão celular ou da produção de uma enterotoxina demonstrada em algumas estirpes mas de importância patogénica ainda controversa.[32,283,422,613,695,717]

As alterações do cólon provocam enteropatia exsudativa e diminuição da capacidade de absorção.[848]

4.1.2.2. - Epidemilogia

A diarreia por *Salmonella* é mais frequente em crianças com menos de 5 anos de idade, particularmente nos lactentes do sexo masculino.[297,567,770]

A febre tifóide é rara em países industrializados,[638] mas a prevalência de diarreia

por outros serotipos de *Salmonella* é de 5 a 10% mas, por veze,s mais em países com condições climáticas e sociais diversas.[208,321,341,382,407,542,555,612,752,759,788,835]

Carne, ovos e, ocasionalmente, água são os principais veículos de infecção por *Salmonella*.[567,770] O Homem pode ser portador assintomático e responsável por surtos epidémicos localizados. Infecções nosocomiais são frequentes em enfermarias de crianças como consequência de infecções cruzadas através de mãos, roupas ou objectos contaminados.

A maior incidência de infecções por *Salmonella*, observadas ao longo de todo o ano,[356,369] ocorre no fim do verão.[567,835]

Há grandes variações geográficas na incidência dos vários serotipos, embora com predomínio de *wien*, *enteritidis* e *typhimurium*.[770]

4.1.2.3. - Clínica

A sintomatologia depende do serotipo de *Salmonella*, da extensão da infecção e da idade e estado nutricional do doente. Pode provocar um largo espectro de situacções clínicas, desde o portador assintomático à infecção sistémica, passando pela infecção limitada ao intestino. Na maioria dos casos, após um período de incubação de 8 a 24 horas, surgem hipertermia, náuseas, vómitos e dores abdominais logo seguidos de diarreia de fezes aquosas, com muco e, por vezes, sangue e pús.[567]

4.1.3. - *SHIGELLA*

Dos 4 subgrupos de *Shigella* conhecidos, *dysenteriae*, *boydii*, *sonnei* e *flexneri*, são os 2 últimos que mais frequentemente provocam diarreia.[518]

4.1.3.1. - Patogénese

As estirpes de *Shigella*, para provocarem doença, devem possuir lipolissacarídeo (LPS) e antigénio O, ser invasivas e elaborar uma toxina após a invasão celular.[453] As estirpes de *Shigella* aderem e invadem as células epiteliais da mucosa do íleon distal e do cólon, dentro das quais se multiplicam, originando reacção inflamatória local e lesões ulcerativas.[191,195,448] Este mecanismo patogénico, sob determinação plasmídica[325,700] e sem interferência de pili,[198] pode ser demonstrado, in vitro, em culturas de células HeLa[699,700] ou pelo teste de Sereny.[297]

A infecção é superficial e só ocasionalmente atinge a submucosa ou os nódulos linfáticos mesentéricos, o que explica a raridade de infecção sistémica.[297] Embora a invasão seja o seu principal mecanismo patogénico,[195,448,449] a experimentação animal permitiu pôr em evidência a produção de duas toxinas em algumas estirpes de *Shigella flexneri* e *Shigella sonnei*, à semelhança do verificado na *Shigella dysenteriae* 1:[403] uma toxina termolábil, activadora do sistema adenilcíclase, de importância patogénica duvidosa,[191,779] e uma enterotoxina, generalizadamente conhecida como toxina de *Shigella*, que, in vitro, mostra citoxicidade, neurotoxicidade e enterotoxicidade,[198,404,405,411,668] decisiva na patogénese mas cujo mecanismo de estimulação da secreção de fluídos não está ainda esclarecido.[453] Muitas outras espécies bacterianas causadoras de diarreia produzem uma toxina semelhante.[580, 581,583]

4.1.3.2. - Epidemiologia

As estirpes de *Shigella* continuam a ser causa importante, e comum, de diarreia

em todo o mundo, mais frequentemente no fim do tempo quente, e com maior incidência em crianças do 1º ao 5º ano de vida.[369,619]

A prevalência da diarreia por *Shigella* é variável e independente das condições climáticas e do estado de desenvolvimento das populações: 0% na Austrália[1] e Formosa,[321] 1%[71] ou 28%[619] nos USA, 1% na França[304] e Hong Kong,[341] 2% no Zaire[542] e Jugoslávia,[538] 4% na Indonésia[752] e Trindade,[356] 5% na Argentina[759] e Espanha,[835] 8% no Brasil,[313] Etiópia[769] e Costa Rica,[501] 11% no Canadá,[382] 12.2% no México[555] e 28% em Israel.[369] A transmissão é, primariamente, por via fecal-oral directa, já que o Homem é o principal reservatório da natureza (não há animais como reservatórios naturais), através de alimentos, água ou objectos contaminados. *Shigella* é altamente infecciosa, bastando 10-100 células bacterianas para causar doença, pelo que, boa higiene pessoal e condições sanitárias capazes, são importantes na prevenção da infecção. A doença é, habitualmente, endémica podendo, no entanto, ocorrer em surtos epidémicos.[567]

4.1.3.3. - Clínica

O espectro clínico da infecção por *Shigella* vai da ausência de sintomas até quadros graves de disenteria. O início dos sintomas é variável, ocorrendo, habitualmente, 24 a 72 horas após a infecção. A doença começa, geralmente, por febre e mal estar logo seguidos de diarreia aquosa, abundante, e dores abdominais; 12 a 24 horas depois a febre diminui, surge tenesmo e as dejecções tornam-se menos abundantes mas mais frequentes, com fezes, por vezes, quase só constituídas por muco e sangue.[638] São frequentes, em crianças, meningismo, irritabilidade e convulsões.[567] Alguns doentes têm tosse, coriza e, por vezes, pneumonia cuja etiologia não está definida já que nunca foi isolada *Shigella* do tracto respiratório destes doentes.[567]

As estirpes de *Shigella flexneri* causam, habitualmente, diarreia mais grave que as estirpes de *Shigella sonnei*.[297]

4.1.4. - *YERSINIA ENTEROCOLITICA*

As estirpes de *Yersinia enterocolitica* são recentemente aceites como causa importante de diarreia aguda no Homem.[57,77,273,334,488,598,600]

4.1.4.1. - Patogénese

A sua virulência está relacionada com a capacidade de produzir, sob informação plasmídica, antigénios V e W.[78,112,273,626,832] Na acção patogénica, ao nível do íleon e do cólon, estão envolvidos mecanismos de aderência e invasão[77,391,443,488,551,829,830,838,893] sobreponíveis aos de *Salmonella* e *Shigella* e, eventualmente, toxígenos, através da produção de uma toxina termoestável semelhante à toxina ST da *Escherichia coli*.[391,488,650,838] A capacidade invasiva é codificada por um plasmídeo enquanto a síntese da enterotoxina parece ser de regulação cromossómica.[738,893] Não se multiplica nas células epiteliais[181] mas invade a lâmina própria e a muscularis mucosa e prolifera em células reticuloendoteliais, particularmente nas placas de Peyer do íleon terminal, provocando, por vezes, lesões ulcerativas superficiais.[832] A linfadenite mesentérica, em resultado da extensão do processo invasivo, rara em crianças com menos de cinco anos de idade, pode ocorrer se houver compromisso de mecanismos de defesa.[77,96,443]

A enterotoxina parece não estar envolvida na doença pois só é produzida quando as estirpes de *Yersinia enterocolitica* crescem a temperaturas baixas e nunca foi demonstrada a 37ºC e em anaerobiose.[551,586,599,650]

4.1.4.2. - Epidemiologia

A infecção por *Yersínia enterocolitica*, mais comum no tempo quente,[496] atinge particularmente crianças com menos de 5 anos de idade.[304,416] Animais, selvagens ou domésticos, são o seu reservatório na natureza[189] e a transmissão ao Homem faz-se através da água ou de outros alimentos contaminados.[57,78,390,496,548,704] A conservação dos alimentos pelo frio estimula o crescimento de *Yersinia* e a elaboração da toxina.[57]

A sua importância etilógica, percentualmente pouco significativa, de 0 a 2%,[3,304,542,612,833] parece depender de factores geográficos.[297] Na Europa, até 1984, foi responsabilizada por 5000 episódios de diarreia.[57]

4.1.4.3. - Clínica

A sintomalogia clínica depende da idade e saúde física do hospedeiro.[77,273] Nas crianças, em particular nos lactentes, embora possa provocar diarreia de gravidade moderada, não diferente, clinicamente, de outras formas de gastrenterite aguda,[44] a infecção evolui, habitualmente, com febre, vómitos e diarreia aquosa, exsudativa, com muco, sangue e leucócitos nas fezes.[297,483,488,496] Em crianças debilitadas ou imunodeprimidas pode causar septicemia com manifestações extraintestinais.[77,96,437] Em crianças mais velhas, como nos adultos, pode provocar ileíte terminal e adenite mesentérica simulando, muito frequentemente, quadros de apendicite aguda.[367,598,601,832] Nalguns doentes, mas raramente nas crianças, pode desencadear alterações autoimunes: artrite, irite, conjuntivite e eritema nodoso.[657]

4.1.5. - *CAMPYLOBACTER JEJUNI*

Embora conhecido desde o início do século como causa de patologia em medicina veterinária,[743] só após a utilização de condições culturais específicas[775] - atmosfera microaerofílica, temperatura próxima dos 40ºC e meios de cultura selectivos - *Campylobacter jejuni* pôde ser identificado como agente patogénico do Homem. Posteriormente à publicação de Skirrow, em 1977,[737]alertando para a sua responsabilidade etiológica na diarreia humana, surgiram múltiplas referências, de várias partes do mundo, particularmente de países de piores condições sanitárias, confirmando a sua importância.[1,23,65,89,90,97,98,100,158,174,175,313,394,400,442,462,465,501,527,559,600,606,612,642,646,737,761,763,775,786,817,847,866...]

4.1.5.1. - Patogénese

A infecção por *Campylobacter* envolve o intestino delgado, mais raramente o cólon, e provoca inflamação com exsudação e hemorragia.[69,130,434,627] Não está bem esclarecido o mecanismo destas alterações. A associação, frequente, com diarreia profusa e aquosa sugere o envolvimento de uma enterotoxina termolábil, demonstrada em algumas estirpes.[189,99,314,514,641] A bacteriemia, por vezes observada,[97,439,778] bem como a presença, frequente, de muco e sangue nas fezes e a observação de lesões ulcerativas da mucosa, sugerem a existência de capacidade invasiva, demonstrada em culturas celulares, para algumas estirpes.[69,97,434,571,641,763]

4.1.5.2. - Epidemiologia

Embora referida em todas as partes do mundo com condições geográficas e sociais diversas, a prevalência de *Campylobacter* é maior nos países em desenvolvimento. No entanto, em alguns países desenvolvidos é a bactéria mais vezes responsabilizada por casos de diarreia aguda (3.6 a 8.8%).[1,23,71,115,612,835,847] Por vezes, no mesmo país, há diferenças regionais relativamente à prevalência; por exemplo, em Espanha, e em estudos recentemente efectuados em várias áreas, a frequência variou entre 2.8 e 19.2%.[100,187,753,835]

A maioria dos casos são esporádicos e é difícil estabelecer a fonte da infecção.[130] A epidemiologia do *Campylobacter* parece ser igual à da *Salmonella*:[16,68] os animais são o reservatório na natureza[67,132,527,737,776] e a transmissão ao Homem far-se-ia por contacto directo ou por ingestão de alimentos contaminados, particularmente aves, água ou leite.[66,67,70,130,344,396,442,527,603,652,777,831] A maior prevalência em países em desenvolvimento[74,736] poderia explicar-se pelas más condições sanitárias e mais fácil contacto com animais enquanto que, em países desenvolvidos, a água e o leite são a fonte de contágio habitual.

É causa de diarreia em crianças de todos os grupos etários, com maior incidência entre os 12 meses e os 5 anos de idade,[74,97,100,132,188,341,394,436,442,729,737,761,847] e no tempo quente.[188,436,442,847]

Em alguns países em desenvolvimento, o isolamento de *Campylobacter* em crianças assintomáticas é frequente,[72,74,97,175,542,642,646] atingindo 40%.[737] Este facto não é observado, ou só o é muito raramente, em países industrializados.[65,356,394,442,465,...612,729,737,761,831]

4.1.5.3. - Clínica

A infecção não é sempre sintomática. Quando causa doença, a sua expressão clínica varia desde a gastrenterite leve à enterocolite grave.[70,99,434] Habitualmente, como pródromos, surge febre, mal estar e mialgias 2 ou 3 dias antes do aparecimento de cólicas abdominais e diarreia aquosa, profusa, de fezes mal cheirosas, muitas vezes com sangue, muco e pús.[65,71,72,99,100,130,188,394,542,753,831] Hipertermia é comum em crianças com menos de 6 meses de vida e dores abdominais em crianças mais velhas.[563] Algumas publicações referem associação frequente de convulsões e diarreia por *Campylobacter*.[333,447,490]

4.2. - VÍRUS

A aplicação, na última década, da microscopia electrónica ao exame directo de fezes proporcionou grande avanço no conhecimento da etiologia das gastrenterites e permitiu atribuir aos vírus a maior responsabilidade.

Muitos agentes víricos têm sido observados nas fezes e propostos como causa de diarreia: *Rotavirus*, *Adenovirus*, vírus *Norwalk*, *Astrovirus*, *Calicivirus*, *Coronavirus* e outras "partículas" víricas. Para alguns deles, como *Calicivirus*,[153,253,476,560,691] *Astrovirus*,[25,420,429] *Coronavirus*,[107,113,115,155,340,512,612] e outras "partículas" víricas,[155] embora presentes em fezes de doentes em surtos de diarreia, esporádicos ou epidémicos, continua a faltar demonstração segura da sua importância na génese da diarreia.[320,604,826]

A diarreia pelo vírus *Norwalk* aparece, caracteristicamente, em surtos epidémicos afectando, particularmente, jovens em idade escolar e os adultos.[62]

4.2.1. - *ROTAVIRUS*

Após a sua identificação, em 1973, nos enterócitos da mucosa duodenal e nas fezes,[51,383,416] logo foi reconhecido como causa de diarreia e referido como o seu principal agente etiológico nas crianças após o período de recém nascido, tanto nos países industrializados como nos países em vias de desenvolvimento.[37,52,59,80,91,101,110,115,117,140,148,160,173,180,182,190,235,250,255,293,313,337,369,382,384,385,407,419,440,446,489,501,534,593,619,628,634,712,730,765,822,835,837,850,865]

4.2.1.1. - Morfologia

Rotavirus, com 70-75nm de diâmetro, é composto de 2 cápsulas, uma externa e outra interna, que envolvem um core central de 40 nm de diâmetro, com 11 segmentos de RNA de cadeia dupla. Cada segmento actua como gene individualizado e é responsável pela síntese de uma proteína.[887]

Nas preparações de *Rotavirus* poder-se-ão individualizar três tipos de partículas: partículas completas, formadas pelo core central envolvido pelas duas cápsulas, partículas incompletas, sem cápsula externa, e partículas vazias, destituídas de ácido nucleico.[39,226,346,615] A infecciosidade das partículas completas é cerca de mil vezes maior que a das incompletas.[86,218,675]

Vários tipos de polipeptídeos, 5 a 10 conforme os autores,[202,229,497,519,572,656,742,809,887] compõem as duas cápsulas. No virus SA11, estirpe padrão para estudo de *Rotavirus*, caracterizaram-se 5: VP1, VP2 e VP6 na cápsula interna e VP3 e VP7 na cápsula externa.[22,224,228,498] Mason *et al.*.[498] admitem ainda, como componente minor da cápsula externa, uma outra classe de polipeptídeos, o VP9. O VP7, maior componente da cápsula externa,[656] parece ser responsável pela adsorção do vírus à célula e o VP3, pela sua infecciosidade.[677] O VP6, maior componente da cápsula interna, tem duas regiões antigénicas: uma, determinante da especificidade de subgrupo e outra, tida como antigénio comum do grupo.[76,302,887]

Outras proteínas, NS29, NS34, NS35 e NS53, não integradas no virião mas codificadas pelo genoma viral, são encontradas em células infectadas no decurso da biossíntese vírica;[22,224,498,742] alguns autores consideram-nas, no entanto, componentes minor do virião.[201,519]

4.2.1.2. - Caracterização antigénica

Nos *Rotavirus* humanos e animais há, pelo menos, um antigénio comum, o antigénio do grupo,[380,875,884,896] associado à proteína VP6, codificada pelo segmento 6 do RNA.[76,302,807] Porém, o *Rotavirus* possui também determinantes antigénicos específicos que permitem agrupá-los por serotipos e subgrupos. O serotipo é determinado pelas proteínas VP7 e VP3 da cápsula externa, codificadas, respectivamente, pelos segmentos 8 ou 9, e 4.[40,142,254,302,375,379,498,754,806,808,878]

O antigénio de subgrupo, também em associação à proteína VP6 da cápsula interna,[379,432,735,862,889,897,896] permite caracterizar 3 subgrupos: I, II e III.[302,433,823]

No Homem, a infecção pode ser provocada pelos 3 subgrupos de *Rotavirus* sendo, no entanto, mais frequente pelo subgrupo II (70-80%) e rara pelo III.[82,302,353,379,432,433,823,862,889] *Rotavirus* isolados em animais pertencem, quase sempre, ao subgrupo I.[302,379]

Foram individualizados 7 serotipos,[351] mas apenas 4 entre os *Rotavirus* humanos:[806,879] os serotipos 1 e 2, só nos *Rotavirus* humanos,[351] os 3 e 4, comuns aos

humanos e animais e os 5, 6 e 7 apenas nos animais.[352,355] Na diarreia das crianças predominam os serotipos 1 e 2.[82,260,353,862]

4.2.1.3. - Electroforetipos

A separação dos 11 segmentos do RNA por electroforese em gel de poliacrilamida permite caracterizar o electroforetipo próprio de cada estirpe de *Rotavirus*.[230,376,468,654] De acordo com a proposta de Lourenço *et al.*,[468] são divididos em 4 grupos: as bandas 1-4 formam o grupo I, as bandas 5 e 6 o grupo II, as bandas 7-9 o grupo III e as bandas 10 e 11 o grupo IV. Os diferentes tipos de migração das bandas em cada grupo são identificadas por letras minúsculas. A análise do padrão electroforético mostra a heterogeneidade genética das diversas estirpes[199,353,376,468,576,676,757] mas não reflecte, necessariamente, diferenças nas suas propriedades biológicas ou antigénicas. Apenas permite afirmar diferenças de composição do RNA quando os electroforetipos são distintos mas, como fragmentos de genoma com composição diversa podem ter um mesmo tipo de migração,[41] não garantem igualdade de composição quando são idênticos.[137,230,257,374,576] Os electroforetipos, de acordo com a posição dos segmentos 10 e 11, são chamados de longos e curtos. Nos *Rotavirus* humanos, os longos corresponderiam ao subgrupos II e serotipo 1 e os curtos ao subgrupo I e serotipo 2.[259,353,374,653,806,862] Por vezes são observados mais que 11 segmentos de RNA[183,468,757] resultando, provavelmente, de infecção simultânea por *Rotavirus* com electroforetipos diferentes ou da formação de novas estirpes por recombinação de genes.[183]

Estudos epidemiológicos mostraram que, numa área geográfica, embora predomine um electroforetipo, outros poderão ser identificados,[258,417,653,711,757,823,889] mesmo em surtos epidémicos.[227,576] A grande flutuação do genotipo do *Rotavirus* traduzirá, possivelmente, adaptação a condições ambienciais e ao estado imunológico da população,[227,417,576] por recombinação das subunidades do RNA.[182,199,227,258,417,468,653,711,757] O mesmo doente pode eliminar *Rotavirus* de electroforetipos diferentes.[215,353,468,653,676,758]...

As diferenças antigénicas nem sempre têm correspondência no padrão electroforético.[230,576] No *Rotavirus* humano foram encontrados, pelo menos, 32 electroforetipos diferentes[757] mas apenas 4 serotipos.[353,468,653,671]

4.2.1.4. - Patogénese

Invade o epitélio do intestino delgado, sobretudo o do jejuno,[161,398,745,780] e afecta o transporte iónico, não pela produção de enterotoxinas mas modificando o processo normal de renovação celular.[329]

Provoca achatamento e alargamento das vilosidades, hipertrofia das criptas e rápida proliferação e migração das células epiteliais das criptas para as vilosidades povoando o epitélio intestinal com células incompletamente diferenciadas, pobres em dissacaridases e com menor capacidade de absorção de cloro e sódio, quer esta seja facilitada, ou não, pela glucose.[9,85,159,161,184,217,398,402,472,473,660,713,745,780]

Nos enterócitos lesados, não há modificações da concentração de cAMP ou estimulação da secreção de cloro mas menor actividade da ATPase Na^+/K^+ da membrana basal lateral.[9,51,161,328,388,398,402,472,473,701,877] Como consequência destas alterações, chega ao cólon maior fluxo de sais, aminoácidos, açúcares e água provocando fezes com excesso de soluto não iónico, muitas vezes ácidas e com substâncias redutoras.[320,329,680]

Como o *Rotavirus* se multiplica em células maduras das vilosidades, e não nas indiferenciadas das criptas que resistem à infecção, as lesões histológicas que provoca, e que revertem em 3 a 8 semanas,[159] constituem, por si, mecanismo inibidor da manutenção da infecção.[347]

4.2.1.5. - Epidemiologia

A percentagem de crianças internadas com diarreia por *Rotavirus* oscila entre 15 e 50% em zonas tropicais e entre 35 e 60 % em zonas temperadas.[620] O *Rotavirus* é, no mundo, a maior causa de mortalidade por diarreia[109,160] sendo responsável, anualmente, por 1 milhão de mortes.[836] Atinge todos os grupos etários mas, com maior incidência, crianças entre os 6 e 24 meses de vida.[110,182,456,501,659,721,822,837,865] Em alguns países em desenvolvimento, lactentes com menos de 6 meses de idade constituem o grupo mais vulnerável.[256]

É frequente o contágio de adultos, particularmente em contacto íntimo com crianças infectadas, quase sempre de forma assintomática ou causando doença benigna[152,155,263,306,383,386,388,410,594,662,821,843,859,895] e, raramente, doença grave.[204,843]

A população geriátrica é mais susceptível sofrendo, por vezes, episódios de diarreia grave.[155]

No recém nascido, a infecção é menos frequente e, quando ocorre, é geralmente assintomática ou benigna,[49,50,92,133,134,475,556] embora esporadicamente cause gastrenterite grave.[171,182,679] A resistência dos recém-nascidos e dos lactentes nos primeiros meses de vida dependerá de anticorpos séricos provenientes da mãe, demonstrados no sangue do cordão umbilical,[36,102,418,662] e da protecção do colostro e leite maternos[36] como resultado, fundamentalmente, de quantidades significativas de anticorpos IgA específicos que persistem, no leite materno, até cerca dos 8 meses.[154,385,523,882,888] A eficácia revelada pela admnistração oral de gamaglobulina humana contendo anticorpos IgA para *Rotavirus* na prevenção da diarreia[34,747,748] e a observação, em experimentação animal, de que só o colostro com anticorpos antirrotavírus é protector,[888] apoiam a existência deste mecanismo.

Mas os mecanismos imunitários de protecção contra infecção por *Rotavirus* não estão totalmente esclarecidos.[256] Nos animais, ao contrário do observado no Homem, a susceptibilidade à infecção é maior nos recém nascidos,[256] mesmo se possuidores de anticorpos circulantes; só anticorpos no lume intestinal têm efeito protector.[749,876]

Nas crianças, os anticorpos séricos, cuja presença no sangue se pode manter após o desaparecimento da imunidade intestinal local,[256] nem sempre estão associados a protecção contra a infecção.[256] Estudos longitudinais mostram que a infecção por *Rotavirus* não confere, necessariamente, protecção. Infecções subclínicas em adultos e reinfecções sintomáticas podem resultar de menor duração da resposta imune ou da susceptibilidade a outros serotipos de *Rotavirus*.[256]

Embora a infecção do recém nascido não se acompanhe sempre de diminuição da frequência da infecção, é menor o risco e a gravidade, da doença.[49]

As diferenças etárias de prevalência de *Rotavirus* poderão traduzir, mais que o efeito protector de anticorpos transplacentares e do colostro e leite maternos, perda de receptores celulares específicos para o vírus com a maturação intestinal[643] e resistência adquirida através de reinfecções pelo mesmo tipo, ou outro, de *Rotavi-*

rus[419,733,859] correlacionada, mais claramente, com imunidade intestinal mediada pela IgA do que com os anticorpos séricos.[61,385]

Após a primeira referência de Chrystie,[133] vários estudos confirmam a menor frequência e gravidade da infecção em crianças alimentadas com leite materno.[43,134,524,647,814,815,843,881] Autores que não encontraram influência do tipo de aleitamento na incidência referem quadros clínicos menos graves, obrigando menos vezes à hospitalização, quando é usado leite materno.[207,319,438,524,814,816,857] A não uniformidade de resultados poder-se-ia explicar pela possibildade de grandes doses infectantes de *Rotavirus* ultrapassarem a capacidade protectora do colostro e leite maternos.[199,265,556]

Rotavirus causa diarreia ao longo de todo o ano mas, em climas temperados, a incidência tem variação sasonal nítida com um pico nos meses frios[59,80,82,91,101,110,160,182,190,251,320,382,418,419,489,534,542,659,837,850,882] embora, por vezes, mantenha também taxas elevados no tempo quente.[91,160,837] Em países com clima tropical, ou subtropical, não é tão clara a influência de factores climáticos.[149,180,207,337,388,513,774,865] A maior incidência no tempo seco, observada em algumas zonas,[56] não tem sido sempre confirmada.[91]

A maior prevalência no sexo masculino,[850] particularmente nos lactentes, não é sempre referida.[80,659,721,882]

A incidência não parece ser influenciada pela situação socioeconómica e nutricional das crianças[721] embora possa ser maior em grupos socialmente desfavorecidos.[881]

Vários estudos de prevalência mostram aquisição rápida de anticorpos séricos para *Rotavirus* entre os 6 e os 24 meses de vida,[56,63,119,207,217,380,382,471,593] possuindo-os a maioria dos indivíduos depois dos 2 anos de idade. Os anticorpos séricos para um tipo de *Rotavirus* não possuem capacidade protectora total[49,56,61,117,278,382,674,712] e não conferem imunidade contra o desenvolvimento de sintomas clínicos na reinfecção por *Rotavirus* de serotipos diferentes.[56,260,320,661,889] De facto, embora as crianças raramente apresentem gastrenterite grave por *Rotavirus* mais que uma vez, têm sido observadas infecções recorrentes por *Rotavirus* de serotipos ou subgrupos diferentes.[260,556,661,707,889]

Não basta identificar *Rotavirus* nas fezes para o implicar como causa da diarreia pois aparece, frequentemente, em crianças assintomáticas, particularmente recém nascidos e lactentes com menos de 6 meses de idade.[11,49,117,118,133,136,206,221,265,320,322,337,475,477,556,619,751,768,815,853,889] Este facto não foi confirmado por outros autores[21,26,160,356,419,441,542,709,788] mas é bem demonstrado por Champsauer *et al.*[117] num estudo longitudinal em crianças sem doença: identifiaram *Rotavirus* nas fezes de 71% dos recém nascidos, de 50% dos lactentes de idade inferior a 6 meses e de 26% das crianças entre 6 meses e 2 anos de idade. O *Rotavirus* não causa, necessariamente, doença e, reconhecida a sua natureza ubiquitária, é muitas vezes abusiva a sua responsabilização na etiologia da diarreia.[56,347,477,556] Sendo assim, torna-se necessário estudar a evolução dos anticorpos séricos antirrotavírus[117] cujos níveis, após a infecção, sintomática ou não,[56,386,420] sobem ao fim de 2 semanas e se mantêm elevados durante 12 meses, começando então a declinar.[418] Ignora-se, no entanto, durante quanto tempo persistem.[155]

O modo de transmissão de *Rotavirus* não é conhecido com exactidão. É, geralmente, aceite a disseminação por via fecal-oral,[865] embora a rápida disseminação em

alguns surtos fosse mais consistente com a via oral directa.[263,384] Replica-se, provavelmente, apenas no intestino delgado[536] e só muito raramente foi identificado fora do tracto gastrointestinal:[160,292,386,456] duas publicações recentes referem a sua presença em secreções respiratórias[702] e no liquor cefaloraquidiano.[874] Poderia infectar o tracto respiratório superior em fase muito precoce da doença ou em concentrações demasiado baixas para permitirem identificá-lo pelos métodos usados.[160] Os grandes agregados familiares, os infantários e as enfermarias constituem factores facilitadores da infecção.[80,180,260,319,320,382,618,660,822,881] Em surtos epidémicos responsabilizou-se a água como via de disseminação.[787]

A excreção de *Rotavirus* nas fezes, que pode preceder o início da doença e manter-se após desaparecerem os sintomas, é mais abundante logo após o início da diarreia, entre o 2º e o 5º dias,[762] declina gradualmente, é rara para além de uma semana[155,160,839] e, mais rara ainda, depois de três.[419]

4.2.1.6. - Clínica

Quando comparado com outros agentes enteropatogénicos, provoca quadros clínicos mais graves, obrigando mais vezes a hospitalização.[53,80,82,91,160,199,266,382,423,-489,870] Num estudo de Koopman *et al.*,[423] enquanto que 11% das crianças com diarreia por *Rotavirus* necessitaram de internamento só 4% das com diarreia de outra etiologia foram internadas.

A expressão clínica da infecção, embora influenciada pela idade dos doentes, não é uniforme em cada grupo etário. Em recém nascidos, geralmente assintomáticos, a diarreia, quando surge, tende a ser benigna[50,134,660,889] embora, e particularmente em prematuros, possa ser grave.[50,171]

Nos lactentes, a doença tem, habitualmente, início súbito, com vómitos, hipertermia e diarreia aquosa;[620] as fezes, por vezes brancas, sugerindo absorção deficiente de gorduras,[801] são frequentemente ácidas e com substâncias redutoras, raramente contêm muco,[337,459,567,617] leucócitos ou sangue[139,620,680] e têm menor concentração de electrólitos que as da diarreia por bactérias, particularmente se toxigénicas.[179,383,870]

Substâncias redutoras e pH ácido traduzem absorção deficiente de açúcares, contributo secundário importante na fisiopatologia da diarreia.[35,162,358,369,489,562,-...644,680,685]

Crianças mais velhas vomitam menos frequentemente, têm fezes menos vezes ácidas e, embora raramente, com sangue ou leucócitos.[139,173,659]

Mas não há quadro clínico suficientemente característico que permita diagnosticar infecção por *Rotavirus*.[118,384] Apenas os vómitos, precedendo, muitas vezes, o início da diarreia, poderão ocorrer com maior frequência, particularmente em lactentes.[61,173,340,456,501,727,850] Alguns autores[110,292,320,456,659,837] referem grande frequência de sintomas respiratórios quer antes quer durante a diarreia. Lewis *et al.*[456] designaram de Síndrome do *Rotavirus* a associação de vómitos e diarreia por *Rotavirus* precedida de sintomatologia respiratória, provavelmente com a mesma etiologia. No entanto, esta obervação não tem sido sempre confirmada.[117,340,489,501,612,659,837] Porém, mantém-se sem explicação o facto de tantas crianças com diarreia por *Rotavirus* terem sintomatologia respiratória. Verificada a sobreposição da sasonalidade de infecções respiratórias e por *Rotavirus*, é grande a probabilidade de coincidência das duas patologias no mesmo doente, como sugerem alguns estudos serológicos.[837]

A doença dura entre 5 a 10 dias[620] mas, em crianças imunodeficientes, pode evoluir de forma crónica.[709]

A associação de *Rotavirus* a outros agentes enteropatogénicos, virus, bactérias ou parasitas, é frequente[208,356,501,573,618,659,721,752,768,837,882,891] mas não causa doença mais grave ou prolongada.[620]

4.2.1.7. - Identificação

Várias técnicas têm sido usadas para demonstrar a presença de *Rotavirus* nas fezes, tais como: imunomicroscopia electrónica (IME), hemaglutinação imunoaderente (IAHA), testes imunoenzimáticos (ELISA), testes radioimunes (RIA), imunofluorescência (IF), aglutinação pelo latex (LTX), microscopia electrónica com coloração negativa (ME) e electroforese em gel de poliacrilamida (PAGE). Entre todas, a microscopia electrónica continua a ser o método de referência, sendo o ELISA método imunoenzimático de grande sensibilidade.[181,384] Na rotina clínica, poder-se-à usar a aglutinação pelo latex.[6]

4.2.2. - *ADENOVIRUS*

Adenovirus é, depois do *Rotavirus*, o vírus mais vezes identificado nas fezes de crianças com diarreia.[80,82,83,91,208,382,445,446,885] Mas a sua responsabilidade na doença não está ainda totalmente esclarecida. Estudos epidemiológicos em larga escala, referindo o seu isolamento, com frequência similar, nas fezes de crianças com diarreia ou assintomáticas, não permitem estabelecer, de forma conclusiva, a sua importância etiológica.[21,82,155,354,356,382,,541,840,880,891]

O interesse pelo *Adenovirus* cresceu, recentemente, após conhecimento das características biológicas próprias[83,445,827,868] do *Adenovirus* entérico, subgrupo do *Adenovirus*, nomeadamente no que diz respeito à composição do DNA e ao comportamento em culturas de tecidos. Foram, assim, individulizados dois serotipos de *Adenovirus*, 40 e 41, causadores de diarreia.[82,474,640]

A epidemiologia e expressão clínica da doença por *Adenovirus* entérico são sobreponíveis ao descrito para a causada por *Rotavirus*.[837] Apenas a sua prevalência não é tão dependente de condições climáticas e a duração da excreção nas fezes é maior, podendo durar alguns meses, dificultando a sua responsabilização etiológica.

4.3. - *CANDIDA ALBICANS*

Sabe-se pouco sobre a eventual participação de fungos na etiologia da diarreia aguda infantil.[298] É frequente o isolamento de *Candida albicans* nas fezes de indivíduos saudáveis e assintomáticos, facto que levou a considerá-la não patogénica. Porém, em alguns doentes com diarreia sem outra etilogia evidente, a presença supranormal de *Candida albicans* nas fezes e a eficácia do tratamento com antimicóticos, levam a considerá-la como enteropatogénica.[131,165,378,783]

Em crianças malnutridas, tem sido verificada menor capacidade de opsonização dos fungos e proliferação de *Candida albicans* no intestino delgado proximal[103,820] associadas a diminuição da actividade lactásica e sugerindo lesão da mucosa intestinal e défice das dissacaridases.[33] Em experimentação animal, na infecção por *Candida albicans* foi demonstrada perda de fluidos sugestiva de intervenção de um mecanismo semelhante ao das enterotoxinas.[797] Pode invadir a mucosa intestinal provocando ero-

sões superficiais e, ocasionalmente, ulcerações.[131,169,222,532]Para a sua acção patogénica contribuem alguns factores predisponentes: carências nutricionais, deficiências imunitárias, situações de fragilidade da mucosa intestinal e terapêutica com imunossupressores, corticosteróides ou antibióticos de largo espectro.[131,470,532]

A diarreia, raramente associada a febre ou vómitos, não se distingue da provocada por outros agentes.[131] O exame cultural das fezes, negativo para vírus, bactérias ou parasitas, mostra crescimento supranormal de *Candida albicans*.

4.4. - PARASITAS

As parasitoses do tracto gastrintestinal capazes de causarem diarreia aguda estão, geralmente, associadas a más condições de salubridade do meio ambiente, e consequente facililidade de exposição. A sua prevalência é influenciada pela idade e situação imunitária específica das crianças.[309]

Embora, a maioria das vezes, a infecção evolua de forma assintomática, alguns parasitas podem, por mecanismos diversos, provocar diarreia aguda nas crianças. Alguns Protozoários, particularmente *Entamoeba histolytica* e *Giardia lamblia*, são causa frequente de diarreia, enquanto que os Helmintas, com excepção do *Strongyloides stercoralis*, raramente estão associados a diarreia.[309] Porém, é díficil, em populações com elevada prevalência de parasitoses, estabelecer a importância dos parasitas na génese da diarreia aguda.

4.4.1. - HELMINTAS

4.4.1.1. - *ASCARIS LUMBRICOIDES*

É grande a sua prevalência em populações com condições sanitárias deficientes. O Homem é o seu reservatório na natureza, adquirindo-se a infecção pela ingestão de alimentos contaminados. Não sendo um sintoma característico da infecção por *Ascaris lumbricoides*, a diarreia pode surgir como consequência de alterações da motilidade intestinal provocada por irritacção directa da mucosa ou por uma resposta imunológica de hipersensibilidade.[873]

4.4.1.2. - *TRICHIURIS TRICHIURA*

A infecção por *Trichiuris trichiura*, habitualmente assintomática, quando é maciça, mais de 5000 ovos por grama de fezes, pode provocar necrose de células intestinais em torno do parasita com reacção inflamatória local intensa e diminuição da reabsorção de água causando diarreia grave, por vezes disenteriforme, com dores abdominais, tenesmo e fezes com muco e sangue.[495]

4.4.2. - PROTOZOÁRIOS

A *Giardia lamblia* é, dos protozoários, o mais vezes referido em todo o mundo como causa de infecção intestinal.[623,824,841]

A dose infectante é muito pequena (10 a 25 cistos).[197] Os mecanismos envolvidos na patogénese desta infecção não são bem conhecidos.[630] A barreira mecânica à absorção que podem constituir quando, em grande número, aderem à superfície do epitélio intestinal, não explica situações graves de doentes com raros trofozoítos observados

em material de biópsias jejunais.[871] Raramente invade a mucosa mas pode provocar aumento da secreção de muco, reacção inflamatória local, aumento do número de linfócitos intraepiteliais, atrofia das vilosidades, e hipertrofia das criptas.[73,129,455,623,690,871] Estas alterações dependeriam da intensidade e duração da infecção e do estado nutricional e reacção imunitária do hospedeiro.[14,129,413,481,596,623] Diminuição da secreção gástrica e pancreática, colonização bacteriana do intestino proximal, deficiência secundária em lactase, compromisso de absorção de açúcares e de vitaminas, B12 e A, e enteropatia exsudativa são alterações que, por vezes, acompanham esta infecção.[413,479,481,...726,872]

A transmissão habitual da infecção é fecal-oral, por água e alimentos contaminados.[197,414,466,595,725] A sua prevalência, maior em crianças,[94,531,545] é facilitada por más condições de higiene.[289,545]

A infecção é, muitas vezes, assintomática, particularmente em zonas endémicas de países em desenvolvimento.[197,361,479] Embora o leite materno proteja contra a infecção,[150,197] é em lactentes que mais vezes provoca diarreia[94,115,197,361,531,545] de fezes pastosas ou líquidas, pálidas, mal cheirosas e acompanhada de náuseas, flatulência, distenção e cólicas abdominais.[5,129,773,785,802,824,841]

II - MATERIAL E MÉTODOS

1. POPULAÇÃO

Num período de 2 anos, de Maio de 1983 a Abril de 1985, estudámos 392 crianças, todas com menos de 5 anos de idade, distribuídas pelos grupos:

Grupo I 272 crianças, todas as internadas por diarreia aguda, de 2ª a 5ª feira, no Serviço de Pediatria do Hospital de S. João.

Grupo II 60 crianças com diarreia aguda, tratadas em consulta externa, durante o segundo ano do estudo. Foram incluídas 5 crianças por mês.

Grupo III 60 crianças assintomáticas, durante o segundo ano do estudo. Foram incluídas 5 crianças por mês.

Estudámos também:

Grupo IV 25 recém nascidos, assintomáticos, com uma semana de vida (pesquisa de *Rotavirus* nas fezes).

Grupo V 25 pares, parturiente/recém nascido (doseamento da taxa sérica de anticorpos antirrotavírus na mãe e no sangue do cordão dos recém nascidos).

Grupo VI 8 agregados familiares de crianças internadas com diarreia e eliminadoras de *Rotavirus* nas fezes constituídos, ao todo, por 8 crianças com menos de 6 anos de vida e por 23 adultos de idades compreendidas entre os 22 e os 83 anos (pesquisa de *Rotavirus* nas fezes).

Grupo VII 241 crianças assintomáticas (determinação da taxa sérica de anticorpos antirrotavírus).

2. MÉTODO

2.1. - Condições climáticas

As características do clima foram apreciadas pelo perfil da temperatura e humidade médias do ar registado, no tempo do estudo, pelo Instituto de Meteorologia e Geofísica (Serra do Pilar).

2.2. - Caracterização da população

As crianças do **grupo I** foram apreciadas através de vários parâmetros, de acordo com um protocolo definido e previamente discutido entre os inquiridores médicos para garantir uniformidade de interpretação:

2.2.1. - Alimentação

Tipos de leite e tempo de utilização, idade de diversificação do regime alimentar e tipo de alimentação no momento da diarreia.

2.2.2. - Avaliação antropométrica

Peso na admissão e após a hidratação, estatura, perímetro cefálico e perímetro braqueal.

2.2.3. - Situação nutricional

Foi avaliada peloo método de McLaren.[522]

2.2.4. - Situção social

Zona de residência, qualidade da habitação, composição do agregado familiar e grau de instrução, profissão e vencimento dos progenitores. A classe social foi definida de acordo com a escala de Graffar,[299] modificada.

2.3. - História clínica da diarreia

Registámos a duração da diarreia antes do internamento, o número de dejecções por dia e as características das fezes, a sintomatologia clínica e a cronologia do seu aparecimento relativamente ao início da diarreia, e eventuais atitudes terapêuticas tomadas.

2.4. - Exames laboratoriais

Estudo efectuados nos doentes internados (**grupoI**).

2.4.1. - Sangue

Sódio	(N: 130-150 mEq/l)
Cloro	(N: 94-106 mEq/l)
Potássio	(N: 3.5-5.5 mEq/l).
Osmolaridade	(N: 280-295 mOsm/l).

Hemograma.*

*Valores de referência do Hemograma

		recém nascido	1 a 3 anos	4 a 5 anos
Hemoglobina	(g/l)	18 ± 2	13 ± 3	14 ± 2
Leucócitos	(nº/ml)	12500 ± 6000	10000 ± 4000	8700 ± 4000
Neutrófilos	(nº/ml)	4750 ± 3000	3120 ± 2300	4140 ± 2500
Linfócitos	(nº/ml)	5950 ± 3000	5700 ± 2800	3550 ± 1800
Eosinófilos	(nº/ml)	359 ± 300	345 ± 340	300 ± 320

Ureia (N: ≤36 mg/dl).

Glucose (N: ≤100 mg/dl).

Acido úrico (N: <5 mg/dl, no primeiro ano de vida, e <6 mg/dl, acima dos 12 meses de idade).

Transaminase alanina aminotransferase (ALT) (N: ≤30 U/l, no primeiro ano de vida, e ≤24 U/l, acima desta idade).
Aspartato aminotransferase (AST) (N=≤39U/l, nos recém-nascidos, ≤27 U/l no primeiro ano de vida, e ≤22 U/l, depois desta idade).

"**Base excess**" (N: < -10, < -6, e < -2.3, para as crianças com idades abaixo dos 2 meses, entre os 2 e os 23 meses, e com 24 ou mais, respectivamente).

Proteína C reactiva (N: <0.5 mg/dl)
Alfa-1 antitripsina (N: 200-400 mg/dl).

Proteínas totais (N: ≥ 60 g/l)
Albumina (N: ≥ 35 g/l)
Globulina gama (N: ≥ 3 g/l nos lactentes; ≥ 7 g/l depois dos 12 meses)
Imunoglobulinas (IgG, IgM e IgA)*

*Valores de referência das Imunoglobulinas (mg/100 ml):

	IgG	IgA	IgM
Recém nascido	645 - 1500	0 - 11	5 - 35
1 a 3 meses	270 - 780	6 - 58	25 - 120
4 a 6 meses	190 - 1125	8 - 96	25 - 120
7 a 12 meses	280 - 1500	16 - 165	30 - 147
13 a 24 meses	260 - 1390	20 - 165	46 - 160
25 a 36 meses	420 - 1360	20 - 205	42 - 180
3 a 5 anos	420 - 1440	52 - 220	40 - 200

As determinações foram efectuadas, usando técnicas convencionais, numa amostra de sangue colhida no primeiro dia de internamento, antes de iniciada qualquer atitude terapêutica, no Laboratório Central do Hospital de S. João ou no Serviço de Imunologia da Faculdade de Medicina do Porto. O doseamento de proteína C reactiva e antitripsina alfa-1 foi repetido 3 semanas depois. As imunoglobulinas foram doseadas por imunodifusão radial e, proteína C reactiva e antitripsina alfa-1, por nefelometria laser computorizada.

Considerámos como valores de referência os fornecidos pelos laboratórios. A valorização de hemoglobina, leucócitos, neutrófilos, linfócitos e eosinófilos, atendendo às variações dependentes da idade das crianças, foi feita após determinação dos desvios dos valores obtidos relativamente à média própria de cada grupo etário pela fórmula: (valor médio para a idade - valor obtido)/valor obtido.

2.4.2. - Fezes

Todos os estudos foram efectuados em fezes da primeira dejecção após o internamento, imediatamente após a emissão ou depois de conservadas a -20°C.

2.4.2.1. - pH (N: ≥6)

Papel indicador de pH.

2.4.2.2. - Substâncias redutoras

Imediatamente após a emissão das fezes, a determinação foi efectuada de acordo com o método de Kerry *et al.*[401] Misturámos, vigorosamente, duas partes de água e uma parte da porção líquida de fezes. Passámos para um tubo de teste Ames® quinze gotas e juntámos um comprimido de Clinitest®. A leitura foi feita um minuto depois e a coloração comparada com as cores de referência. Considerámos anormais valores > 0.5%. Quando o teste foi negativo, hidrolizámos as fezes com duas partes de HCl (1N) e fervura durante trinta segundos, previamente à adição do comprimido de Clinitest®.

2.4.2.3. - Electrólitos e osmolalidade

Foram determinados no sobrenadante das fezes, obtido por centrifugação a 12000G/20 minutos/4°C. O doseamento de Na^+ e de K^+ foi feito por fotometria de emissão atómica e o doseamento de Cl^- por titulometria (método de Schales).

2.4.2.4. - Leucócitos

Misturámos numa lâmina uma porção de muco ou da parte líquida das fezes com uma gota de azul de metileno; passado um minuto, cobrimos a preparação com lamela e observámo-la ao microscópio. Os leucócitos são facilmente reconhecidos pelas suas dimensões, relação núcleo/citoplasma e presença de granulações citoplasmáticas.

A pesquisa, confirmada por dois observadores, foi considerada positiva quando tinha dois ou mais leucócitos por campo, em cinco campos, com objectiva 40X.

2.4.2.5. - Eritrócitos

Exame microscópico directo.

2.4.2.6. - Antitripsina alfa-1 e IgA

As fezes foram colhidas na primeira dejecção no internamento e, quando necessário, conservadas a -20ºC. Para o doseamento, foram liofilizadas e, posteriormente, pulverizadas em almofariz. Então, uma aliquota de 250mg foi suspensa em 5 ml de soro fisiológico, agitada em vortex durante 30 minutos e centrifugada a 12000g/20min./4ºC. O teor de antitripsina alfa-1 e de IgA foi determinado no sobrenadante, por nefelometria laser computorizada (Behring), utilizando imunossoros (Dakopatts), de acordo com a técnica descrita por Crossley.[146]

2.4.3. - Urina

Osmolaridade - Determinada em urina da primeira emissão, no internamento, conservada a -20ºC.

2.5. - Exames microbiológicos

2.5.1. - Fezes

Os exames microbiológicos das fezes foram efectuados nas crianças dos grupos **I**, **II** e **III**. Nas amostras populacionais dos grupos **IV** e **VI** apenas pesquisámos ***Rotavirus***.

2.5.1.1. - Bactérias

Não mais que três horas após a colheita, as amostras de fezes foram inoculadas em diferentes meios de cultura.

2.5.1.1.1. - *Escherichia coli*

De todas as amostras de fezes, cinco colónias de *Escherichia coli*, isoladas em MacConkey agar (Difco), foram repicadas para Trypticase soy agar (Difco) e classificadas de acordo com o serotipo, produção de enterotoxinas, capacidade invasiva ou de enteroaderência, e produção de factores de colonização (CFA), conforme a seguir se descreve:

2.5.1.1.1.1. - Serotipagem

Após a caracterização, com soros polivalentes, dos grupos A, B e C, as estirpes positivas foram classificadas pelos soros monoespecíficos: $O_{18a}O_{18c}$:K_{71}, $O_{20a}O_{20c}$:K_{61}, O_{26}:K_{60}, O_{44}:K_{74}, O_{55};K_{59}, O_{86a}:K_{61}, O_{111}:K_{58}, $O_{112a}O_{112c}$:K_{66}, O_{119}:K_{72}, O_{125}:K_{70}, O_{126}:K_{71}, O_{127a}:K_{63} e O_{128}:K_{67}.

2.5.1.1.1.2. - Toxina termoestável (ST)

Usámos o método do "ratinho recém nascido":[550] Inoculámos 5 colónias de *Escherichia coli* em frascos de 250 ml com 10 ml de Trypticase Soy Broth que foram incubados, 18 horas, em banho maria a 37ºC com agitação contínua (200 rotações/minuto). A cultura foi, então, centrifugada a 4000g durante 20 minutos, e o sobrenadante filtrado, através de membranas Milipore com a porosidade média de 0.22µm, e corado com azul de Evans. Uma aliquota de 0.1 ml foi intro-

duzida no estômago de 2 ratinhos recém-nascidos, com menos de 4 dias de vida. Neste método, substituímos a injecção transcutânea pela intubação orogástrica, através de um tubo capilar de poliestereno flexível. Este processo de introdução do filtrado foi mais eficaz que a injecção transcutânea referida na metodologia original. Quatro horas depois, os ratinhos foram sacrificados com clorofórmio e dissecados; o intestino, cortado ao nível do duodeno e do recto, foi separado do resto do corpo.[170]

O resultado foi considerado positivo quando a relação peso do intestino/peso do resto do corpo foi superior a 0.083.

Utilizámos como padrão de referência uma estirpe de *Escherichia coli* ST^+.

2.5.1.1.1.3. - Toxina termolábil (LT)

Usámos o mesmo filtrado preparado para a pesquisa da toxina ST, utilizando culturas celulares CHO.[756] Num tubo de ensaio, juntámos 20µl do filtrado a 0.25 ml de meio F-12, contendo 1% de soro fetal de vitelo, penicilina (100 U/l), estreptomicina (100 µg/l) e 0.05 mmol de metil isobutil xantina, e, aproximadamente, $5x10^3$ células CHO. Após incubação, 24 horas a 37ºC, em atmosfera com 6% de CO_2, observámos ao microscópio: os ensaios contendo ≥ 40% de células arredondadas foram considerados positivos.

Como padrão de referência foi usada uma estirpe de *Escherichia coli* produtora de toxina LT.

2.5.1.1.1.4. - Enteroaderência

Seguimos a técnica descrita por Cravioto.[143] Células HEp-2 cresceram num tubo com lamela, a 37ºC e 5% de CO2, em meio de Eagle (MEM) adicionado de 100 U de penicilina/ml, 100 µg de estreptomicina/ml, 2mM L-glutamina, 0.25µg de anfotericina B/ml e 10% de soro bovino fetal, até à formação de uma monocamada confluente. As estirpes de *Escherichia coli* cresceram, durante 12 horas, a 37ºC, em Trypticase soy broth (Difco).

Adicionámos uma aliquota da cultura de *Escherichia coli* ao meio de cultura celular, entretanto substituído por MEM com 1% de D-manose e sem antibióticos. Após incubação a 37ºC, durante 1 hora, o meio foi renovado, para remover as células e as bactérias não aderentes, e novamente incubado por 4 horas a 37ºC. O tubo foi então lavado 3 vezes com soro fisiológico e as células fixadas com metanol e coradas com Giemsa. A lamela foi observada ao microscópio. Considerámos enteroaderentes as estirpes que aderiam a ≥ 40% das células HEp-2.

2.5.1.1.1.5. - Capacidade invasiva

Usámos culturas de *Escherichia coli* em Trypticase soy broth (Difco) e culturas de células HeLa, conforme técnica descrita por Mehlman *et al.*[525] Após crescimento celular, em meio de Eagle (MEM), até à formação de uma monocamada confluente, adicionámos ao meio de cultura uma aliquota da cultura de *Escherichia coli*. A preparação foi incubada a 37ºC, em atmosfera com 5% de CO2, durante 7 horas, com lavagens às 3 e 5 horas e no final do teste. As células foram então fixadas com metanol, coradas com Giemsa e observadas ao microscópio. Em algumas estirpes usámos o teste de Serény.[720]

2.5.1.1.1.6. - Factores de colonização

As estirpes de *Escherichia coli* foram cultivadas em meio sólido de acordo com o preconizado por Evans *et al.*[231] Eritrócitos de sangue humano de tipo A, de boi e galinha, citratado e colhido por punção venosa, foram lavados, 3 vezes, com tampão de fosfato salino, pH 7.2, e ressuspensos, no mesmo tampão, a 3% (v/v). Misturámos, em lâmina, 25µl da suspensão de eritrócitos frescos com 25 µl da suspensão bacteriana obtida no mesmo tampão (A540=0.4), à temperatura ambiente, a 4ºC e a 50ºC, na presença e na ausência de metilaminosídeo (Sigma) a 0.5% (p/v).

As culturas piliadas foram observadas por microscopia electrónica, de acordo com a técnica descrita para a pesquisa de *Rotavírus*: uma gota da cultura bacteriana foi colocada numa grelha de cobre (400 mesh) revestida com parlódio (1.5%). A preparação foi corada com ácido fosfotúngstico a 2% (p/v), pH 6.5. Cada grelha foi observada num microscópio Siemens Elminskope IA a 80000 Kv. A espessura dos pili foi avaliada em fotografias ampliadas 200000 x, com o auxílio de um aparelho de medida Baush e Lomb.

2.5.1.1.2. - *Salmonella* e *Shigella*

As amostras fecais, após emulsão em soro fisiológico, foram directamente inoculadas em 4 meios de cultura sólidos - MacConkey agar (Difco), XLD agar (Difco), Hektoen enteric agar (Difco) e SS agar (Difco) - e em 3 caldos de enriquecimento - GN broth Hajna (Difco), Selenite broth (Difco) e Tetrathionate broth base (Difco).

Os meios de cultura sólidos, após a sementeira, foram mantidos, durante 48 horas, a 37ºC. Efectuámos subculturas para os meios sólidos, indicados acima, a partir dos caldos nutritivos, de acordo com as instruções do fabricante. As colónias suspeitas foram repicadas para Triple sugar iron agar (Difco) e para ureia agar (Difco) e, posteriormente, identificadas por critérios bioquímicos, de acordo com Edwards e Ewing[214] ou pelo sistema API 20 E.

A classificação serológica de *Salmonella* e *Shigella* foi feita com soros comerciais preparados por Difco Laboratories.

2.5.1.1.3. - *Campylobacter jejuni*

As fezes foram inoculadas em *Campylobacter* agar base (Oxoid), suplementado com sangue de carneiro, vancomicina (10mg/l), polimixina B (2500 U.I./l) e trimethoprim (5mg/l), e incubadas à temperatura de 42ºC em atmosfera microaerófila, contendo 5% de O2 e 10% de CO2, segundo o método de Skirrow.[737] As colónias suspeitas foram identificadas por Gram, mobilidade, catalase, oxidase, susceptibilidade ao ácido nalidíxico (30µg) e cefalotina (30µg), redução de nitritos, crescimento em glicina a 1%, cloreto de sódio a 3.5% e bílis a 1%, e por crescimento a temperaturas de 25ºC, 35ºC e 42ºC.

2.5.1.1.4. - *Yersinia enterocolitica*

As fezes foram inoculadas em *Yersinia* selective agar base (Oxoid), suplementado com Cefsulodina (15 mg/l), Irgasan (4 mg/l) e Novobiocina (2.5 mg/l) (Suplemento SR 109 Oxoid) e incubadas a 32ºC/24 horas. Efectuámos, também, culturas de enriquecimento em tampão de fosfato salino (Oxoid) e mantidas no

frigorífico a 4ºC, durante 21 dias. Posteriormente, ao 7º, 14º e 21º dias, efectuámos subculturas para *Yersinia* selective agar (Oxoid).

Colónias suspeitas foram repicadas para Kligler iron agar (Difco) e ureia Christensen agar (Difco) e posteriormente identificadas pelo sistema API 20E.

2.5.1.1.5. - *Staphylococcus aureus*

As amostras fecais, cujo exame directo após coloração pelo método de Gram mostrava predomínio de cocos positivos ao Gram e agrupados em cachos, foram inoculadas em manitol salt agar (Difco). *Staphylococcus aureus* foi identificado pelos métodos convencionais.

2.5.1.2. - *Candida albicans*

As amostras fecais, cujo exame directo após coloração pelo método de Gram mostrou predomínio de células leveduriformes, foram inoculadas em Mycobiotic agar (Difco). As colónias de leveduras foram identificadas pelo sistema API 20C.

2.5.1.3. - Protozoários e Helmintas

Utililizámos a técnica de Richter.

2.5.1.4. - Vírus

A microscopia electrónica (ME) e um método imunoenzimático (ELISA) foram usados, simultaneamente, nos primeiros 159 doentes. Perante a sobreposição dos resultados obtidos, passámos a utilizar, nos restantes doentes, por razões técnicas e económicas, apenas a metodologia ELISA. Em 91 doentes a pesquisa foi feita por aglutinação do latex (Rotalex®), simultaneamente com a ME e o ELISA.

2.5.1.4.1. - Microscopia electrónica (coloração negativa)

Seguimos o método proposto por Flewtt *et al.*:[252] diluição das fezes em tampão fosfato salino (PBS-Bio-Merieux), pH 7.2 na proporção de 10-20% (p/v), centrifugação a 1400g/20 minutos a 4ºC e centrifugação do sobrenadante a 4000g/30 minutos a 4ºC. As amostras negativas foram centrifugadas a 140000g/60 minutos a 4ºC (IEC modelo B-60, Rotor SB-405). Uma gota do sobrenadante, ou do "pellet" ultracentrifugado ressuspendido em PBS, foi colocada numa grelha de cobre (400 mesh) revestida com parlódio (1.5%). A preparação foi corada com ácido fosfotúngstico a 2% (P/V), pH 6.5. Cada grelha foi observada durante 15 minutos num microscópio Siemens Elminskop IA a 80000Kv, com ampliação 20000x.

2.5.1.4.2. - Método imunoenzimático (ELISA)

Usámos o Kit comercial Enzygnost® *Rotavírus* (Beringwerk), de acordo com as indicações do fabricante. É um método de ELISA directo que utiliza como fase sólida placas de microtitulação. As amostras de fezes foram diluídas em *tampão de diluição*, homogeneizadas e clarificadas a 1400g/20 minutos. Do sobrenadante e da diluição do antigénio *Rotavirus* foram pipetados 150 µl para as cúpulas da placa Enzygnost-*Rotavírus* (Ag), revestidas com soro de coelho anti SA_{11}. Após a aspiração das diluições das fezes, as cúpulas foram lavadas 3 vezes com *solução de lavagem* e, a cada uma, adicionados 150µl de conjugado antirrotavírus (ligação de

fosfatase alcalina com anticorpos de boi anti NCDV), diluído em *tampão de diluição*, e incubadas em câmara húmida a 37º/1 hora. O conjugado enzimático foi então aspirado e as cúpulas novamente lavadas, como anteriormente descrito. Da solução de substrato, obtida por dissolução do *substrato* em *tampão de substrato*, foram depositados 100µl em cada cúpula, que ficaram em câmara húmida a 25ºC/45 minutos ou a 37º/30 minutos. A reacção foi então interrompida pela adição de 50µl de *solução de paragem* (NaOH2N). A leitura da reacção corada foi feita imediatamente a 405nm num espectrofotómetro ELISA (LOV-1 Bio-Merieux), usando como branco uma mistura de 100µl de *solução de substrato* com 50µl de solução de paragem. A intensidade da cor desenvolvida é proporcional à concentração de antigénio *Rotavirus* presente. Foi sempre incluído um controlo de fezes *Rotavírus* negativo. Só foram considerados os resultados quando o controlo negativo era incolor ou fracamente corado (A_{405nm}<0.2) e o antigénio *Rotavírus*, que serviu de controlo positivo, mostrou reacção positiva. Considerámos como positivas as amostras cuja absorvência excedeu 0.1, ou mais, a absorvência do controlo negativo e foi igual, ou superior, a 0.2A.

Todos os resultados positivos e duvidosos foram confirmados por *blocking test*.

2.5.1.4.2.1. - "Blocking Test"

A 100µl do sobrenadante da amostra fecal adicionámos 100µl de soro antirrotavírus positivo e 100µl de soro antirrotavírus negativo diluídos em *tampão de diluição* (a diluição foi ajustada ao título do soro positivo, optando-se por diluições baixas para obtermos neutralização eficaz das amostras com títulos elevados de antigénio *Rotavírus*). É importante que os soros, para neutralização e revestimento, e o conjugado, não provenham do mesmo hospedeiro para que se possa afirmar a especificidade da reacção antigénio/anticorpo. Após incubação a 37ºC/2 horas e a 4ºC/18 horas, transferimos 150µl de cada mistura para duas cúpulas da placa Enzygnost *Rotavírus* (Ag). Utilizámos então o método ELISA, atrás descrito, para a pesquisa de antigénio *Rotavírus*. Foram consideradas amostras positivas aquelas que, após tratamento com soro antirrotavírus positivo, apresentaram redução de absorvência igual ou superior a 50%. A percentagem de neutralização ("blocking") foi calculada pela fórmula:

A = abs. a 450 nm c/soro antirrotavírus negativo
B = abs. a 450 nm c/soro antirrotavírus positivo
C = % neutralização (blocking)

$$C = \frac{A - B}{A} \cdot 100$$

As amostras fortemente positivas, com teste de neutralização inferior a 50%, foram diluídas e novamente estudadas.

A validade do "Blocking Test" foi assegurada pela introdução no ensaio de uma amostra de fezes *Rotavírus* positiva.

2.5.1.4.3. - Aglutinação pelo latex (Rotalex®)

Usámos o kit comercial Rotalex® (Orion Diagnostica) seguindo o protocolo preconizado pelo fabricante. As amostras de fezes foram diluídas a 10% (p/v) em

solução tampão, pH 7.2, e homogeneizadas em vortex. Após repouso de 30 minutos à temperatura ambiente, a suspensão foi centrifugada a 1200g/20 minutos. Numa lâmina de vidro colocámos, separadamente, duas gotas de 30µl do sobrenadante; na primeira, misturámos uma gota do *reagente latex* constituído por anticorpos de coelho antirrotavírus e, na segunda, uma gota do *reagente de controlo* que contém uma suspensão de latex em seroalbumina bovina. Após mistura cuidadosa, a leitura foi feita, 2 minutos depois, contra uma superfície escura e, se necessário, com auxílio de lupa. Considerámos o resultado como positivo quando houve aglutinação apenas na primeira gota. Se ambas as gotas apresentaram aglutinação o resultado foi considerado não fiável e, portanto, o teste ininterpretável. A validade do método foi confirmada pela utilização de um controlo positivo, *controlo positivo rotalex* (antigénio *Rotavírus*).

2.5.1.4.4. - Pesquisa de anticorpos antirrotavírus, no sangue, por fixação de complemento

O título sérico de anticorpos antirrotavírus foi determinado na amostra populacional dos grupos **V** e **VII**. Nas crianças do gupo **I**, foi determinado no dia de internamento e cerca de 3 semanas depois.

Os soros, previamente diluídos a 1/4 em soro fisiológico, foram inactivados a 56ºC, durante 30 minutos. Foi utilizada a metodologia seguinte:

2.5.1.4.4.1. - Titulação da hemolisina (Difco)

A 0.2 ml, de várias diluições de hemolisina (Difco) (1/500, 1/1000, 1/2000, 1/4000, 1/8000 e 1/16000), adicionámos 0.1ml de complemento de cobaia a 1:30 (v/v em soro fisiológico), 0.2 ml de eritrócitos de carneiro a 2% (v/v em soro fisiológico) e 0.5 ml de soro fisiológico. Como controlo usámos mistura semelhante, substituindo os 0.2 ml de diluição de hemolisina por soro fisiológico. Após agitação e incubação em banho maria a 37ºC, durante 30 minutos, pesquisámos a hemólise. A mais alta diluição que ainda a mostrava definiu "uma unidade de hemolisina" (1 U).

2.5.1.4.4.2. - Titulação do complemento de cobaio

Partindo da diluição de complemento a 1:30, fizemos várias diluições em soro fisiológico: em 8 tubos, juntámos, sucessivamente, 0.08 ml, 0.09 ml, 0.10 ml, 0.11 ml, 0.12 ml, 0.13 ml, 0.14 ml e 0.15 ml de soro fisiológico e, pela mesma ordem, 0.12 ml, 0.11 ml, 0.10 ml, 0.09 ml, 0.08 ml, 0.07 ml, 0.06 ml e 0.05 ml de complemento a 1:30. A cada tubo adicionámos 0.1 ml de antigénio *Rotavirus* (Berhing) ajustado a 2U (de acordo com indicações do fabricante). Repetimos o processo duas vezes, substituindo o antigénio *Rotavirus* por antigénio controlo *Rotavirus* negativo (Behring) ou por soro fisiológico.

Após incubação em banho maria a 37ºC durante 30 minutos, adicionámos 0.2 ml de sistema hemolítico (obtido por mistura, em partes iguais, de hemolisina 2U e eritrócitos de carneiro a 2%). A reacção foi lida após nova incubação a 37ºC, durante 30 minutos, quando as 3 misturas apresentavam hemólise completa para a mesma diluição de complemento. Se obtinhamos hemólise em todos os tubos, reiniciávamos a titulação partindo de diluição de complemento a 1:60.

A mais alta diluição de complemento que, na presença de antigénio *Rotavirus*

e 2U de hemolisina, mostrava hemólise completa, define "uma unidade de complemento" (1U).

2.5.1.4.4.3. - Reacção de fixação do complemento propriamente dita

Em placas de microtitulação misturámos soro do doente, soro fisiológico, soro inactivado (1/4), antigénio *Rotavirus* (2 U), antigénio controlo negativo e complemento (2U), de forma a obter várias diluições do soro do doente (1/4,1/8... 1/256).

As placas, após homogeneização, foram mantidas a 4ºC/ 18 horas. Após 15 minutos à temperatura ambiente, 0.5 ml do sistema hemolítico foi adicionado às cúpulas, ao que se seguiu nova incubação a 37ºC/ 30 minutos, com agitação das placas cada 10 minutos.

Quando os controlos estavam correctos procedemos à leitura do título hemolítico. O título de anticorpos de cada soro foi definido pelo inverso da mais alta diluição do soro que ainda não mostrava hemólise.

2.5.1.4.5. - Electroforetipos dos *Rotavirus*

As 11 bandas de migração do RNA são divididas em 4 grupos que contêm, respectivamente, as bandas 1, 2,,3 e 4 (grupo I), 5 e 6 (grupo II), 7, 8 e 9 (grupo III) e 10 e 11 (grupo IV). Diferenças de migração das bandas dentro de cada grupo são definidas por letras minúsculas (a, b, c, d,...).

O electroforetipo é expresso pela combinação dos padrões de migração das bandas de RNA, dentro de cada grupo.[468]

A metodologia da determinação dos electroforetipos foi a seguinte:

2.5.1.4.5.1. - Extracção de RNA do *Rotavirus*

Usámos o método descrito por Nicolas *et al.*.[575] Uma amostra de 0.2 g de fezes foi diluída, 5 vezes, em PBS pH 7.2, num tubo ependorf. Após homogeneização em vortex de eixo excêntrico, a 7000 rpm, o RNA foi extraído com fenol clorofórmio. Depois de nova homogeneização, foi precipitado com etanol.

2.5.1.4.5.2. - Electroforese do RNA em gel de poliacrilamida

A electroforese, efectuada em placas de gel de poliacrilamida a 10%, foi realizada a 10 mA, durante 18 horas. Como padrão foi usada uma estirpe de *Rotavirus* SA11.

2.5.2. - Urina

Foi feita cultura da urina, colhida por micção, no primeiro dia de internamento. Todos os resultados positivos, em crianças com menos de um ano de idade, foram confirmados em urina colhida por punção vesical.

3. ESTUDO E APRESENTAÇÃO DE RESULTADOS

Os elementos colhidos, após elaboração de um código, foram tratados num computador Macintosh Plus e estudados estatisticamente pelo progama StatView 512+TM. De acordo com os objectivos, utilizámos vários métodos estatísticos:

Análise de variância - Para comparação de médias entre vários grupos.
"t test" - Para comparação de médias entre dois grupos.
"chi quadrado" com correcção de Yates - Para estudar distribuições de frequência.
Análise de regressão linear - Para estudar a variação de uma grandeza em função de outra.
Correlação - Para estudar a interdependência entre duas grandezas.

Para todos os métodos, considerámos como significativo $p \leq 0.05$. Os valores qualitativos foram analizados e expressos em percentagem e os dados numéricos em valor absoluto e médias e desvios padrão. Os resultados são apresentados, para melhor visualização, em figuras, quadros e gráficos. O processamento dos dados em computador obrigou à utilização de ponto (.) em vez de vírgula (,) na expressão dos números decimais.

III - RESULTADOS

1. - ETIOLOGIA

1.1. - AGENTES IDENTIFICADOS NAS FEZES

1.1.1. - Grupo I - 272 crianças internadas por diarreia aguda (Quadro 1.1)

Os agentes infecciosos mais vezes identificados foram: *Rotavirus* em 109 (40.1%) crianças, *Escherichia coli* patogénico em 78 (28.7%) e *Salmonella* em 41 (15.1%); *Campylobacter jejuni* foi identificado em 9 (3.3%), *Yersinia enterocolitica* em 8 (2.9%) e *Shigella* em 7 (2.6%); *Adenovirus*, pesquisado em 159 doentes, foi encontrado nas fezes de 3 (1.9%); culturas "puras" de *Staphylococcus aureus* e de *Candida albicans* foram obtidas em 4 (1.5%) e 5 (1.8%) doentes, respectivamente.

O exame parasitológico revelou *Giardia lamblia* em 3 doentes (1.1%), *Trichiuris trichiura* em 9 (3.3%) e *Ascaris lumbricoides* em 18 (6.6%).

Em 66 (24.3%) doentes não identificámos nenhum dos agentes pesquisados.

Quadro 1.1 - Agentes identificados nas fezes:

Agente	Grupo I (nº=272)		Grupo II (nº=60)		Grupo III (nº-60)	
	nº	%	nº	%	nº	%
Vírus						
Rotavirus	109	40.1	16	26.7	8	13.3
*Adenovírus**	3	1.9	n/p		n/p	
Bactérias						
Escherichia coli #	78	28.7	9	15.0	6	10.0
Salmonella	41	15.1	4	6.7	1	1.7
Campylobacter jejuni	9	3.3	0	0.0	0	0.0
Yersínia enterocolitica (1)	8	2.9	0	0.0	0	0.0
Shigella	7	2.6	2	3.3	0	0.0
Staphylococcus aureus	4	1.5	0	0.0	0	0.0
Fungos						
Candida albicans	5	1.8	0	0.0	0	0.0
Parasitas						
Giardia lamblia	3	1.1	3	5.0	1	1.7
Ascaris lumbricoides	18	6.6	1	1.7	5	8.3
Trichiuris trichiura	9	3.3	1	1.7	1	1.7
Sem agente	66	24.3	27	45.0	42	70.0
População	**272**	**100.0**	**60**	**100.0**	**60**	**100.0**

* Pesquisado em 159; # Engloba as estirpes EPEC,ETEC,EIEC e EAEC; n/p Não pesquisado.

(1) 4 estirpes foram isoladas a partir do caldo de enriquecimento a 4ºC, após 3 semanas.

1.1.2. - Grupo II - 60 crianças com diarreia tratadas em consulta externa (Quadro 1.1)

Os agentes patogénicos mais vezes encontrados foram: *Rotavirus* em 16 (26.7%) crianças, *Escherichia coli* patogénico em 9 (15.0%) e *Salmonella* em 4 (6.7%). Não foram encontrados *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica* nem, de forma valorizável, *Staphylococcus aureus* ou *Candida albicans*.

O exame parasitológico revelou *Giardia lamblia* em 3 crianças (5%), *Ascaris lumbricoides* em 1 (1.7%) e *Trichiuris trichiura* em 1 (1.7%).

Em 27 (45.0%) crianças não foi observado qualquer dos agente pesquisados.

1.1.3. - Grupo III - 60 crianças assintomáticas (Quadro 1.1)

Rotavirus foi identificado em 8 (13.3%), *Escherichia coli* patogénico em 6 (10.0%), *Salmonella* em 1 (1.7%), *Giardia lamblia* em 1 (1.7%), *Ascaris lumbricoides* em 5 (8.3%) e *Trichiuris trichiura* em 1 (1.7%). Nenhum agente enteropatogénico foi identificado em 42 (70.0%) crianças.

Estatisticamente, apenas é significativa a diferença de frequência de *Rotavirus* ($p \leq 0.0005$), *Salmonella* ($p \leq 0.01$) e *Escherichia coli* ($p \leq 0.005$), entre os grupos I e III, e de *Escherichia coli*, entre os grupos I e II ($p \leq 0.05$). No entanto, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolítica*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* foram identificados apenas em crianças do grupo I e *Shigella* nos grupos I e II.

A percentagem de crianças sem agente patogénico nas fezes era significativamente mais elevada no grupo III relativamente ao grupo I ($p \leq 0.0001$) e grupo II ($p \leq 0.01$) mas, também, no grupo II relativamente ao grupo I ($p \leq 0.005$).

1.2. - ESTUDO DOS AGENTES ETIOLÓGICOS

1.2.1. - *ROTAVIRUS*

A pesquisa de *Rotavirus* foi feita por microscopia electrónica (**ME**), por um método imunoenzimático (**ELISA**) e por aglutinação do latex (**LTX**), conforme descrito em Material e Métodos. Considerámos a pesquisa positiva sempre que identificámos *Rotavirus* por qualquer dos métodos.

1.2.1.1. - Microscopia electrónica (ME)

A pesquisa de *Rotavirus* foi positiva em 63 das 159 amostras de fezes estudadas por ME (Fig. 1). A visualização de *Rotavirus*, em 57 amostras, foi conseguida com centrifugação das fezes a 1400g/20 minutos e, em 6 amostras, apenas após ultracentrifugação.

Em 3 amostras, negativas para *Rotavirus*, foram observados *Adenovirus* (Fig. 2).

1.2.1.2. - ELISA

Esta técnica imunoenzimática, utilizada em todos os doentes dos grupos I, II e III (n=392) na pesquisa de *Rotavirus*, foi positiva em 145. A análise por "blocking test" de todos os resultados positivos por ELISA confirmou a presença de *Rotavirus* em 132 (91%) amostras. Os 13 resultados positivos por ELISA e não confirmados por "blocking test" foram considerados falsos positivos.

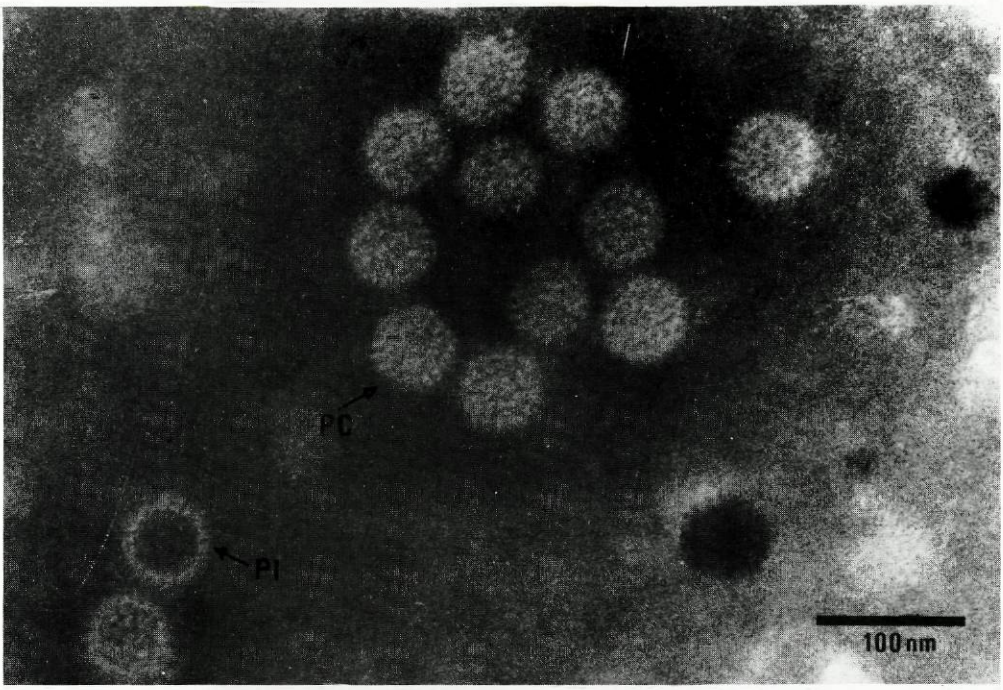

Fig.1 - Partículas de *Rotavirus* visualisadas por microscopia electrónica ('coloração negativa'): partículas completas (PC): partículas incompletas (PI). Escala : 100 nm.

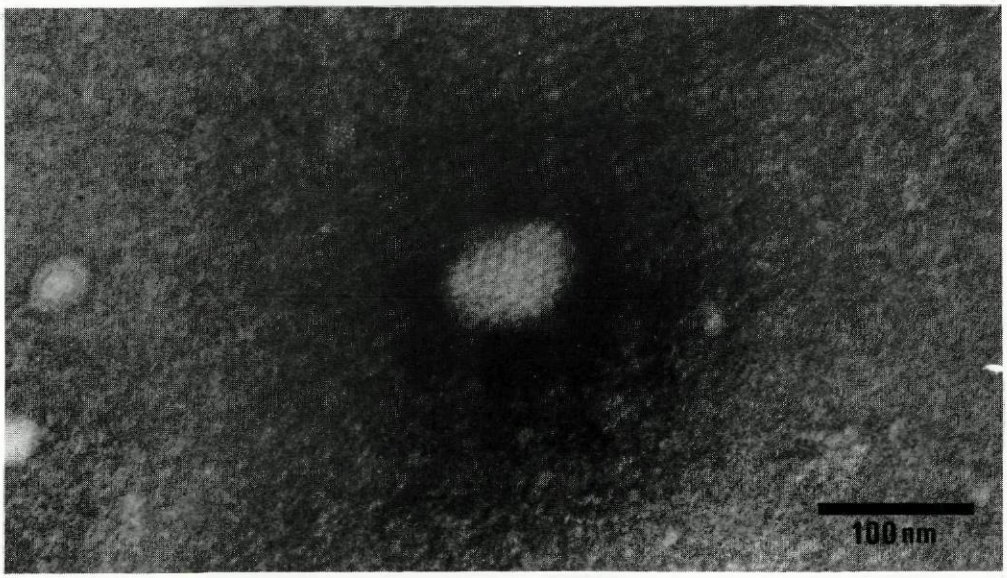

Fig.2 - Partículas de *Adenovirus* visualizadas por microscopia electrónica ('coloração negativa'). Escala : 100 nm.

1.2.1.3. - Latex (LTX)

Foi utilizado em 91 amostras de fezes. Em 53, a pesquisa foi positiva e, em 6, o resultado foi ininterpretável por ter havido aglutinação com o Reagente Latex Control®.

Não houve aglutinação nas 2 amostras fecais que continham *Adenovirus*.

1.2.1.4. - Comparação das 3 técnicas

As 3 técnicas foram, simultâneamente, executadas em 91 doentes, 56 do sexo masculino e 35 do sexo feminino (Quadro 1.2).

Em 6, das 91 amostras, o teste com latex foi considerado ininterpretável já que a aglutinação foi observada, também, no testemunho. A análise de concordância das 3 técnicas incide, pois, sobre os resultados válidos obtidos nas 85 amostras restantes.

Quadro 1.2 - Comparação dos resultados obtidos com as 3 técnicas (nº=91):

nº	LTX	ME	ELISA
30	-	-	-
50	+	+	+
2	+	-	+
1	+	+	-
1	-	-	+
1	-	+	+
3	*	-	-
3	*	+	+

* reacção ininterpretável.

Em 80 amostras (94.1%) houve concordância dos resultados obtidos pelas três técnicas: em 30 (35.3%), a pesquisa de *Rotavirus* foi negativa e, em 50 (58.8%), positiva.

Em 4 amostras os resultados foram positivos apenas com 2 dos métodos: em 1, por ME e ELISA, em 2, por LTX e ELISA e em 1, por LTX e ME.

Em 1 amostra a pesquisa de *Rotavirus* foi positiva por ELISA e negativa por ME e LTX.

Os resultados obtidos com LTX mostraram concordância de 96.5% com ME e ELISA.

Considerámos a presença de *Rotavirus* sempre que a pesquisa foi positiva por ME ou por ELISA confirmado com "blocking test".

1.2.1.5. - Comparação dos resultados obtidos por ELISA e ME (Quadro 1.3)

Nos 159 doentes em que usámos, simultaneamente, ELISA e ME, obtivemos concordância de resultados em 155 (97.5%) amostras. Dos outros 4 doentes, em 3 (2 com *Rotavirus* associado a *Salmonella* e 1 com *Rotavirus* associado a *Yersinia enterocolitica*), todos com subida significativa do título sérico de anticorpos antirrotavírus, a pesquisa foi positiva apenas por ELISA e, em 1 (com diarreia havia 5 dias e título sérico de anticorpos antirrotavírus de≥ 256, no dia de internamento e após duas semanas) apenas a pesquisa por ME foi positiva.

Quadro 1.3 - Comparação dos resultados obtidos por ME e ELISA (nº=159):

nº	ME	ELISA
62	+	+
93	-	-
3	-	+
1	+	-

concordância de 97.5%

1.2.1.6. - Pesquisa de *Rotavirus* nas fezes de crianças assintomáticas (Quadro 1.4)

Rotavirus foi identificado, por ELISA, em 6 (24%) de 25 recém nascidos, assintomáticos e com uma semana de vida: 18 alimentados com leite materno e 7 com leite industrial. A positividade da pesquisa não foi influenciada pelo tipo de aleitamento.

Das 60 crianças assintomáticas, com idade superior a 28 dias e menor que 5 anos (8.4±6.7 meses), a pesquisa de *Rotavirus*, por ELISA, foi positiva em 8 (13.3%).

Quadro 1.4 - Pesquisa de *Rotavirus* em crianças assintomáticas:

	total	*Rotavirus* +	
	nº	nº	%
Recém nascidos (1 semana)	25	6	24.0
Idade > 28 dias	60	8	13.3
Total	**85**	**14**	**16.5**

1.2.1.7. - Frequência *de Rotavirus* em familiares de crianças com diarreia por *Rotavirus*

Pesquisámos *Rotavirus* nas fezes dos componentes de 8 agregados familiares correspondentes a 8 crianças internadas com diarreia aguda por *Rotavirus*, num total de 25 adultos, de idade compreendida entre os 22 e os 83 anos, e 8 crianças, de idade entre os 4 meses e os 6 anos. Em 19 adultos e 5 crianças, pertencentes a 6 famílias, a pesquisa foi sempre negativa; das outras 2 famílias, numa, foi negativa nos pais e numa criança de 4 meses e positiva em 2 crianças, de 4 e 6 anos de idade, ambas sem qualquer sintomatologia, na outra, foi negativa em 2 adultos jovens e positiva em 2 adultos, 1 com 62 e outro com 83 anos de idade, ambos com diarreia aguda e sem qualquer outro agente patogénico identificado nas fezes.

1.2.1.8. - Duração da eliminação de *Rotavirus* pelas fezes

Em 42 crianças com diarreia aguda e apresentando *Rotavirus* nas fezes, uma segunda pesquisa efectuada uma semana após, apenas em uma demonstrou persistir o *Rotavirus*. Esta criança, três semanas depois, não eliminava *Rotavirus*.

1.2.1.9. - Anticorpos antirrotavírus (Quadros 1.5, 1.6 e 1.7)

A taxa sérica de anticorpos antirrotavírus, no momento do internamento e cerca de 3 semanas depois, foi determinada em 165 crianças internadas com diarreia aguda, 96 (58.2%) das quais com *Rotavirus* nas fezes.

Tiveram seroconversão (o título de anticorpos tornou-se doseável ou igual ou superior a 4 vezes o valor da primeira determinação) 71 (74.0%) das 96 crianças com *Rotavirus* e 8 (11.6%) das 69 sem *Rotavirus* (Quadro 1.6).

Em 30 (42.3%), das 71 crianças com *Rotavirus* e seroconversão positiva, foi identificado outro agente: EPEC em 10, EPEC mais *Salmonella* em 1, EPEC mais *Campylobacter* em 1, EPEC mais *Ascaris* em 2, EPEC mais *Candida* em 1, ETEC LT$^+$ em 2, ETEC LT$^+$ mais *Ascaris* em 1, EAEC em 2, *Salmonella* em 4, *Salmonella* mais *Yersinia* em 1, *Campylobacter* em 1, *Yersinia* em 1, *Staphilococcus* em 2 e *Candida* em 1.

Em 15 (60%), das 25 crianças com *Rotavirus* e sem seroconversão, identificámos nas fezes: EPEC em 5, EPEC mais *Ascaris* em 1, ETEC LT$^+$ em 2, *Salmonella* em 5, *Staphylococcus* mais *Candida* em 1, e *Candida* mais *Trichiuris* em 1.

A seroconversão foi positiva em 8 doentes sem *Rotavirus* nas fezes (1 sem qualquer agente, 3 com EPEC, 1 com *Salmonella*, 1 com *Yersinia*, 1 com *Ascaris* e outro com EPEC mais *Shigella*) .

A idade e o sexo das crianças não influenciou, significativamente, a frequência de seroconversão do título de anticorpos antirrotavírus.

Nas 76 (46%) crianças, das 165 crianças em que o anticorpo antirrotavírus não era doseável na fase aguda, a seroconversão foi significativamente mais frequente ($p \leq 0.0001$) do que nas que possuíam anticorpos séricos desde o início da diarreia (Quadro 1.6).

Quadro 1.5 - Seroconversão do título de anticorpos antirrotavírus em doentes com *Rotavirus*, isolado ou associado a outros agentes (nº=96):

seroconversão	total		isolado		em associação	
	nº	%	nº	%	nº	%
Positiva	71	74.0	41	42.7	30	31.3
Negativa	25	26.0	10	10.4	15	15.6
Total	**96**	**100.0**	**51**	**53.1**	**45**	**46.9**

p n.s.

Quadro 1.6 - Situação imunitária no 1º dia de internamento e frequência da seroconversão nos doentes com e sem *Rotavirus* nas fezes (nº=165):

título	Seroconversão positiva					Seroconversão negativa				
	total	*Rotav.+*		*Rotav.-*		total	*Rotav.+*		*Rotav.-*	
		nº	%	nº	%		nº	%	nº	%
< 4	49	45	91.8	4	8.2	27	4	14.8	23	85.2
4	17	16	93.7	1	6.3	8	4	50.0	4	50.0
8	11	8	72.7	3	27.3	31	10	32.3	21	67.7
16	1	1	100.0	0	0.0	14	5	35.7	9	64.3
32	1	1	100.0	0	0.0	4	1	25.0	3	75.0
128	0	0	-	0	-	1	0	0.0	1	100.0
256	0	0	-	0	-	1	1	100.0	0	0.0
Total	**79**	**71**	**89.8**	**8**	**10.2**	**86**	**25**	**29.1**	**61**	**70.9**

Quadro 1.7 - Seroconversão do título de anticorpos antirrotavírus:

Etilogia	total nº	efectuado nº	seroconverão nº	seroconverão %
Rotavirus isolado	**56**	**51**	**41**	**80.4**
Rotavirus associado a:				
EPEC	16	15	10	
EPEC mais *Salmonella*	1	1	1	
EPEC mais *Campylobacter*	1	1	1	
EPEC mais *Candida albicans*	1	1	1	
EPEC mais *Ascaris lumbricoides*	3	3	2	
EPEC mais *Yersinia* e *Giardia*	1	0	0	
ETEC	5	4	2	
ETEC mais *Ascaris lumbricoides*	1	1	1	
EAEC	2	2	2	
Salmonella	9	9	4	
Salmonella e *Yersinia*	1	1	1	
Campylobacter	1	1	1	
Campylobacter mais *Ascaris* e *Trichiuris*	1	0	0	
Yersinia	1	1	1	
Yersinia mais *Giardia lamblia*	1	0	0	
Candida albicans	1	1	1	
Candida albicans mais *Staphylococcus*	1	1	0	
Candida albicans mais *Trichiuris*	1	1	0	
Staphylococcus	2	2	2	
Ascaris lumbricoides	3	0	0	
Ascaris lumbricoides mais *Trichiuris*	1	0	0	
Total	**53**	**45**	**30**	**66.7**
Adenovirus		2	0	
EPEC		13	3	
ETEC		2	0	
EIEC		2	0	
Salmonella		8	1	
Shigella		1	0	
Yersinia enterocolitica		2	1	
Campylobacter jejuni		1	0	
EPEC mais *Salmonella*		1	0	
EPEC mais *Campylobacter*		1	0	
EPEC mais *Yersinia*		1	0	
EPEC mais *Shigella*		2	1	
EPEC mais *Ascaris* e*Trichiuris*		1	0	
EIEC mais *Trichiuris*		1	0	
Campylobacter mais *Ascaris*		1	0	
Staphylococcus aureus		1	0	
Ascaris lumbricoides		2	1	
Giardia lamblia		1	0	
Sem agente		26	1	
Total		**69**	**8**	**11.6**

1.2.1.10. - Frequência de anticorpos séricos antirrotavírus em crianças assintomáticas (Quadro 1.8)

Para avaliarmos a frequência de anticorpos antirrotavírus na população infantil, determinámos o nível de anticorpos antirrotavírus no soro de 241 crianças assintomáticas. A percentagem da positividade foi elevada nas crianças com menos de um mês de idade (83.3%), diminuía até aos 6 meses, para logo voltar a subir.

Quadro 1.8- Frequência de anticorpos antirrotavírus doseáveis (≥ 4) em crianças sem *Rotavirus* nas fezes:

Idade (meses)	total [1] nº	título ≥ 4 nº	título ≥ 4 %
< 1	30	25	83.3
1 - 2	29	18	62.1
3 - 4	44	24	54.6
5 - 6	30	11	36.7
7 - 8	27	13	48.1
9 -10	15	8	53.3
11 - 12	16	8	50.0
13 - 17	17	13	76.5
18 - 23	20	11	55.0
≥ 24	13	9	69.0
Total	**241**	**140**	**58.1**

(1) número de crianças em cada frupo etário.

1.2.1.11. - Anticorpos antirrotavírus no sangue materno e do cordão umbilical

Determinámos o título de anticorpos antirrotavírus no sangue de 25 mães e no do cordão umbilical dos respectivos filhos. Havia correlação positiva, altamente significativa (p≤0.001), entre os valores obtidos no sangue das mães e dos cordões umbilicais (fig.3).

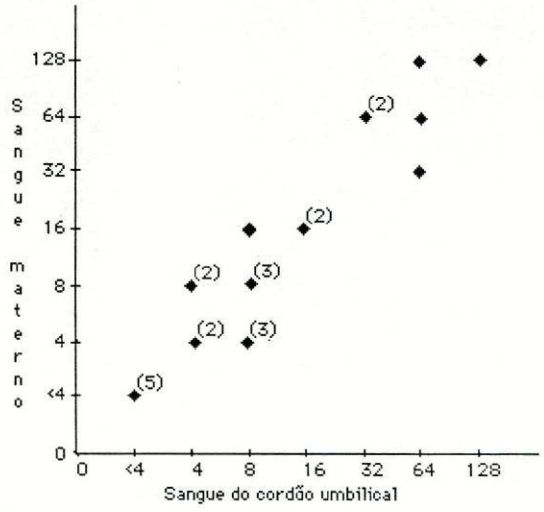

Fig. 3 - Título de anticorpos antirrotavírus no sangue materno e do cordão umbilical (nº=25).

1.2.1.12.- Electroforetipos (Quadro 1.9 e Fig. 4))

Efectuámos electoforese do RNA do *Rotavirus* isolado das fezes de 33 doentes, 19 (61.3%) do sexo masculino e 12 (28.7%) do sexo feminino, com idade média de 6.7±4.7 (0.5-20) meses. Identificámos 11 perfis electroforéticos: 2 com migração curta, 8 com migração longa (segmentos 10 e 11) e 1 com 13 bandas de migração (electroforetipo misto) (fig. 4).

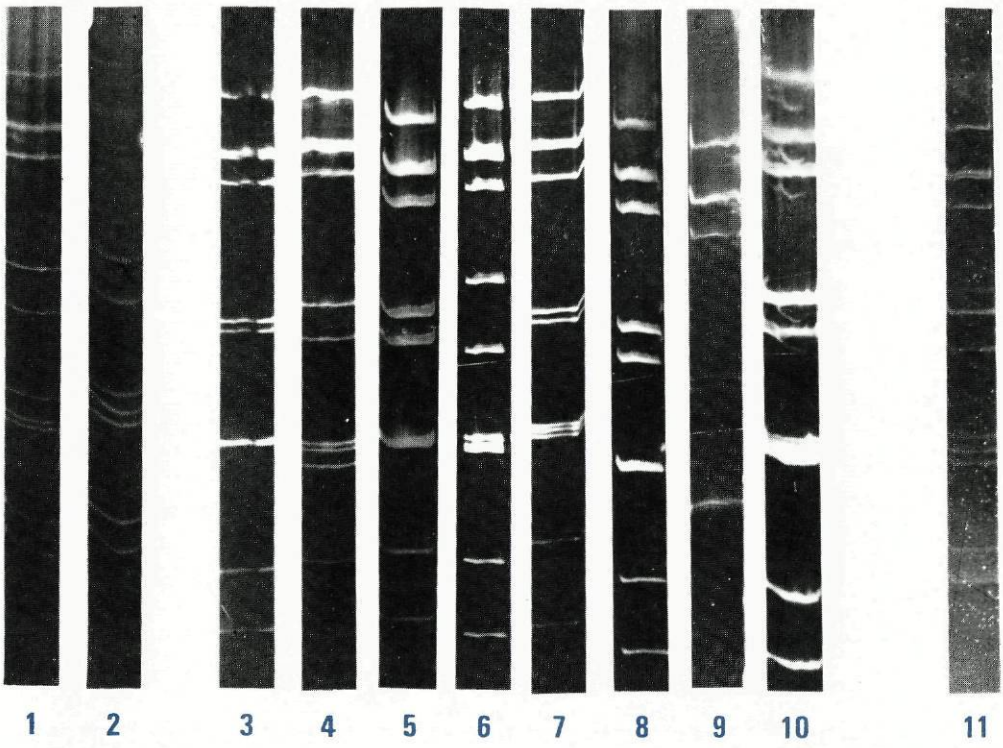

Fig. 4 - Perfís dos electroforetipos:
migração curta: 1 - Ic IIa IIIc IVb; 2 - Ib IIa IIIb IVb.
migração longa: 3 - Ib IIc IIIg IVa; 4 Ib IIb IIIb IVa; 5 - Ib IIb IIIg IVa; 6 - Ib IIa IIIf IVa; 7 - Ib IIc IIIe IVa; 8 - Ic IIb IIIg IVa; 9 - Ic IIc IIIe IVa; 10 - Ic IIb IIIf IVa.
migração mista: 11.

Na área suburbana degradada apenas foi identificado o electroforetipo Ic IIb IIIg IVa enquanto que na área urbana e rural encontrámos 8 electroforetipos distintos. O electoforetipo misto foi observado numa criança de origem rural.

As diferenças na incidência dos vários electroforetipos em função da idade dos doentes eram, estatisticamente, significativas apenas quando comparámos o serotipo Ib IIa IIIb IVb com os Ic IIa IIIc IVb e Ic IIb IIIf IVa ($p \leq 0.001$) (Quadro 1.9).

Quadro 1.9 - Perfís electroforéticos - frequência por idade e área de residência dos doentes:

perfil	total	tipo de habitação			idade (meses)	
		urbana	rural	degradada		
	nº	nº	nº	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito
Ib IIa IIIb IVb	5	1	4	0	4.1± 2.9	0.5 - 7.0
Ib IIa IIIf IVa	1	0	1	0	7.0	
Ib IIb IIIb IVa	3	2	1	0	6.7± 5.5	3.0 -13.0
Ib IIb IIIg IVa	3	3	0	0	6.6± 5.8	2.5 -13.3
Ib IIc IIIe IVa	1	0	1	0	5.0	
Ib IIc IIIg IVa	1	1	0	0	10.0	
Ic IIa IIIc IVb	3	1	2	0	11.3± 7.8	5.0 -20.0
Ic IIb IIIf IVa	4	3	1	0	11.9± 7.3	5.0 -21.6
Ic IIb IIIg IVa	10	3	2	5	6.2± 5.0	1.5 -18.0
Ic IIc IIIe IVa	1	1	0	0	6.0	
Misto	1	0	1	0	3.3	
Total	**33**	**15**	**13**	**5**	**7.1± 5.3**	**0.5 -21.6**

Efectuámos a pesquisa de anticorpos antirrotavírus, na fase aguda da diarreia e cerca de 3 semanas depois, em 28 dos doentes em que conheciamos o padrão electroforético do RNA do *Rotavirus* (Quadro 1.10). Houve seroconversão em 21 (75%) dos doentes; apenas em 3 perfis electroforéticos a seroconversão não foi sempre positiva - 2 (40%) Ib IIa IIIb IVb, 1 (33.3%) Ic IIa IIIc IVb e 4 (50%) Ic IIb IIIc IVa.

Quadro 1.10 - Frequência da seronconversão do título de anticorpos antirrotavírus e electroforetipo do RNA.

Padrão	total	seroconversão positiva		
		nº (1)	nº	%
Ib IIa IIIb IVb	5	5	3	60.0
Ib IIa IIIf IVa	1	1	1	100.0
Ib IIb IIIb IVa	3	3	3	100.0
Ib IIb IIIg IVa	3	3	3	100.0
Ib IIc IIIe IVa	1	1	1	100.0
Ib IIc IIIg IVa	1	1	1	100.0
Ic IIa IIIc IVb	3	3	2	66.7
Ic IIb IIIf IVa	4	4	4	100.0
Ic IIb IIIg IVa	10	8	4	50.0
Ic IIc IIIe IVa	1	1	1	100.0
Misto	1	1	1	100.0
Total	**33**	**28**	**21**	**75.0**

(1) número em que foi pesquisada a seroconversão.

1.2.2. - *ESCHERICHIA COLI*

Nas fezes de crianças com diarreia aguda, estudadas no internamento (grupo I) ou na consulta externa (grupo II), e em crianças assintomáticas (grupo III) identificámos diversas populações de *Escherichia coli* (Quadro 1.11).

Quadro 1.11 - Tipos patogénicos de *Escherichia coli* identificados:

Tipos	grupo I (nº=272)		grupo II (nº=60)		grupo III (nº=60)	
	nº	%	nº	%	nº	%
EPEC	56°	20.6	8*	13.3	6	10.0
ETEC	13	4.8	1	1.7	0	0.0
LT^+/ST^-	12	4.4	1	1.7	0	0.0
LT^-/ST^+	1	0.4	0	0.0	0	0.0
EIEC	6	2.2	1*	1.7	0	0.0
EAEC	5°	1.8	2*	3.3	0	0.0
Total	**78**	**28.7**	**9**	**15.0**	**6**	**10.0**

*1 estirpe O28 tinha capacidade invasiva e 2, uma O111 e outra O26, eram enteroaderentes. °3 estirpes, uma O111 e duas O26, eram enteroaderentes.

1.2.2.1. - EPEC (Quadro 1.11)

As estirpes EPEC eram as mais frequentes em qualquer dos grupos. Pertenciam a 12 serotipos, com maior prevalência de O26, O119, O125, O127a, O55 e O111 (Quadro 1.12). A frequência dos serotipos não foi influenciada, significativamente, pela idade, pelo tipo social ou área de residência das crianças.

Os serogrupos O20aO20c, O86, O111, O112aO112c, O125, O126 e O128 só foram identificados em crianças com diarreia.

Quadro 1.12 - Serotipos de *Escherichia coli* enteropatogénico (EPEC):"

Serotipos	grupo I (nº=272)		grupo II (nº=60)		Grupo III (nº=60)	
	nº	%	nº	%	nº	%
O26:K60 (H-)°	13	4.8	3	5.0	1	1.7
O119:K69	10	3.7			2	3.3
O125:K70	8	2.9				
O127a:K63 (H-)°	7	2.6	1	1.7	1	1.7
O55:K59 (H-)°	6	2.2			1	1.7
O111:K58 (H-)°	4	1.5	3	5.0		
O86a:K61:H34	3	1.2				
O126:K71 (H-)°	2	0.8				
O128:K67	1	0.4				
O20aO20c:K61	1	0.4				
O112aO112c:K66	1	0.4				
028:K73			1*	1.7	1	1.7
Total	**56**	**20.6**	**8**	**13.3**	**6**	**10.0**

" não estão comercializados soros para determinação de serotipos O:H; ° 8 estirpes de *Escherichia coli* O26, 4 estirpes O127, 4 estirpes O56, 2 estirpes O111 e 1 estirpe O126 eram imóveis; * mostrou capacidade invasiva

1.2.2.2. - ETEC (Quadro 1.11)

Em 14 doentes identificámos estirpes ETEC: 13 eram produtoras de toxina LT (fig. 5), sendo 12 identificadas do grupo I e 1 do grupo II; apenas 1 estirpe de *Escherichia coli* era produtora de toxina ST (fig. 6).

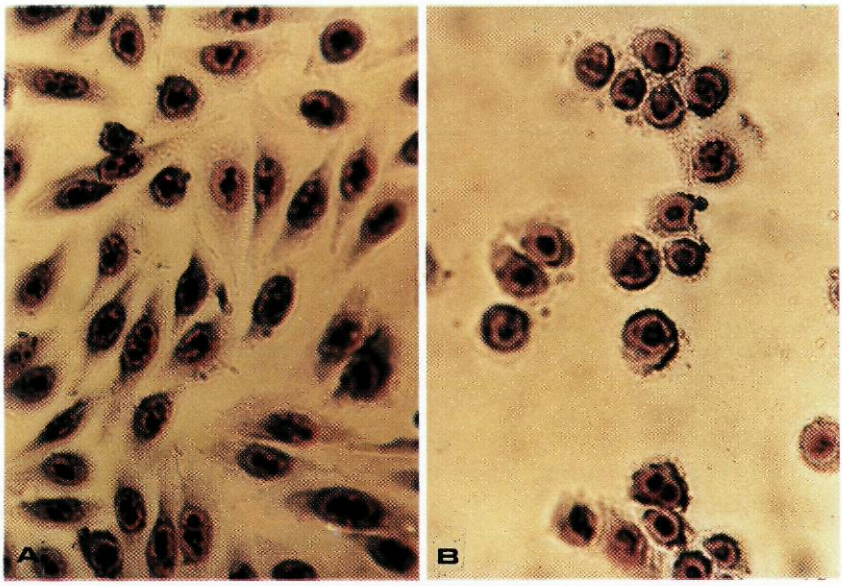

Fig. 5 - A - morfologia das células CHO em presença de sobrenadante de cultura de uma estirpe de *Escherichia coli* LT^-/ST^- (controlo); B - arredondamento das células CHO em presença do sobrenadante da cultura de uma estirpe de *Escherichia coli* LT^+.

Fig. 6 - Visualização da tumefação intestinal provocada pelo sobrenadante da cultura de uma estirpe de *Escherichia coli* LT^-/ST^+.

1.2.2.3. - EIEC (Quadro 1.11)

Em 7 doentes, as estirpes de *Escherichia coli* revelaram capacidade invasiva: 6 em crianças do grupo I e 1 do grupo II. A EIEC identificada no grupo II era uma estirpe EPEC O28:K73 (fig. 7).

Fig. 7 - Demonstração da capacidade invasiva de uma estirpe de *Escherichia coli.*

1.2.2.4. - EAEC (Quadro 1.11)

Em 7 doentes, as estirpes de *Escherichia coli* revelaram enteroaderência (fig. 8): duas O111:K58, três O26K:70 e duas não EPEC. A enteroaderência foi significativamente mais vezes observada nas estirpes EPEC ($p \leq 0.05$).

Nenhuma das estirpes ETEC, EIEC ou EAEC foi encontrada em crianças assintomáticas.

1.2.2.5. - Factores de colonização (CFA) (Quadro 1.13)

Apenas nas estirpes de *Escherichia coli* pertencentes a crianças do grupo I foi pesquisada a presença de factores de colonização CFA I e CFA II. Foram identificadas 17 estirpes de *Escherichia coli* com antigénio CFA I, sendo 3 ETEC LT^+/ST^-, 3 EPEC e 11 sem mecanismo patogénico. Apenas uma estirpe de *Escherichia coli*, sem mecanismo patogénico conhecido, tinha CFA II.

Em todas as estirpes de *Escherichia coli* CFA positivas foi confirmada, por microscopia electrónica, a presença de pili perítricos com 7 nm de espessura (fig. 9).

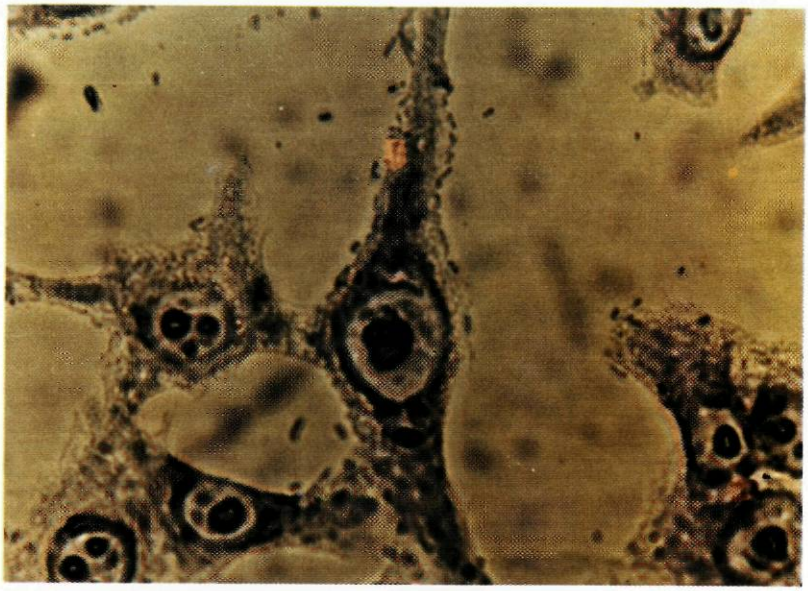

Fig.8 - Aderência de uma estirpe de *Escherichia coli* O111 a células HEp-2.

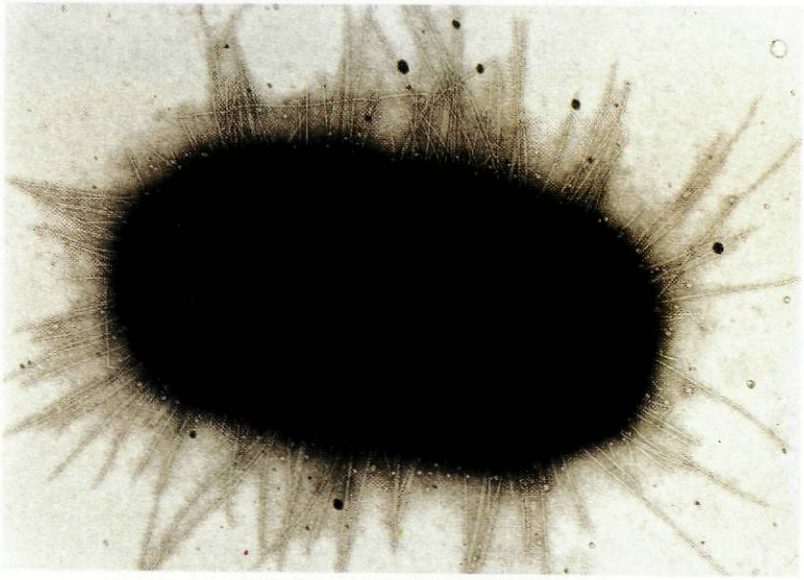

Fig.9 - Estirpe de *Escherichia coli* exibindo factores de colonização CFA1. Ampliação : 50000 X.

A frequência de CFA I em estirpes ETEC apenas era significativamente superior quando comparada com a observada em estirpes de *Escherichia coli* sem mecanismo patogénico conhecido ($p \leq 0.05$).

Quadro 1.13 - Factores de colonização e estirpes de *Escherichia coli*:

	total	CFA I		CFA II	
	nº	nº	%	nº	%
ETEC LT⁺/LT⁻	12	3	25.0	0	0.0
ETEC LT⁻/ST⁺	1	0	0.0	0	0.0
EPEC	56#	3	5.4	0	0.0
EIEC	6	0	0.0	0	0.0
EAEC	5#	0	0.0	0	0.0
*E. coli**	194	11	5.7	1	0.5
Total	**272**	**17**	**6.3**	**1**	**0.4**

2 EPEC eram EAEC.

* sem mecanismo patogénico identificado

1.2.3. - *SHIGELLA*

Quatro estirpes de *Shigella sonnei* e 5 estirpes de *Shigella flexneri* foram identificadas em 9 crianças dos grupos I e II. Nenhuma estirpe de *Shigella* foi isolada em crianças do grupo III (Quadro 1.14).

Quadro 1.14 - Classificação das estirpes de *Shigella*:

espécie	grupo I (nº=272)		grupo II (nº=60)		grupo III (nº=60)	
	nº	%	nº	%	nº	%
S. sonnei	3	1.1	1	1.7	0	0.0
S. fexneri tipo 2	4	1.5	1	1.7	0	0.0

1.2.4. - *SALMONELLA*

Foram identificadas 46 estirpes de *Salmonella*, pertencentes a vários espécies: 41 em crianças do grupo I, 4 em crianças do grupo II e 1 em crianças do grupo III (Quadro 1.15).

Quadro 1.15 - Classificação das estirpes de *Salmonella* isoladas:

estirpes	grupo I (nº=272)		grupo II (nº=60)		grupo III (nº=60)	
	nº	%	nº	%	nº	%
Salmonella typhi 9,12,Vi:d	2	4.9	0	0.0	0	0.0
Salmonella, serotipo:						
wien 1,4,12:b:1,w	15	36.6	3	75.0	1	100.0
enteritidis 1,9,12:g,m	11	26.8	0	0.0	0	0.0
derby 1,4,5,12:f,g	5	12.2	1	25.0	0	0.0
heidelberg 1,4,5,12:r:1,2	3	7.3	0	0.0	0	0.0
typhimurium 1,4,5,12:i:1,2	3	7.3	0	0.0	0	0.0
Salmonella, serotipo 47:r:z*	2	4.9	0	0.0	0	0.0
Total	**41**	**100.0**	**4**	**100.0**	**1**	**100.0**

* Ex-*Arizona hinshawii*

1.2.5. - *CAMPYLOBACTER JEJUNI*

Em 9 doentes, todos do grupo I, foi identificado *Campylobacter jejuni* (Quadro 1.1).

1.2.6. - *YERSINIA ENTEROCOLITICA*

Foram identificadas 8 estirpes de *Yersinia enterocolitica* em fezes de crianças do grupo I (Quadro 1.1). Três das estirpes só foram isoladas a partir dos caldos de enriquecimento, após 21 dias.

1.2.7. - OUTROS AGENTES MICROBIANOS

Em crianças do grupo I, observámos desenvolvimento cultural muito abundante de *Staphylococcus aureus* em 4 e de *Candida albicans* em 5 (Quadro 1.1).

1.2.8. - PARASITAS

Giardia lamblia, *Ascaris lumbricoides* e *Trichiuris trichiura* foram identificados em amostras fecais de crianças dos 3 grupos, sem diferenças significativas de frequência entre os grupos (Quadro 1.1).

1.2.9. - ASSOCIAÇÃO DE AGENTES ENTEROPATOGÉNICOS

Em 70 (25.7%) doentes do **grupo I**, em 3 (5%) do **grupo II** e em 2 (3.3%) do **grupo III**, havia associação de 2 ou mais agentes (Quadro 1.16):

- de 2 agentes em 55 (20.2%) doentes do grupo I, em 3 (5%) doentes do grupo II e em 2 (3.3%) doentes do grupo III.
- de 3 agentes em 13 (4.8%) doentes do grupo I.
- de 4 agentes em 2 (0.8%) doentes do grupo I.

No **grupo I**, estavam associados a outro agente, 53 (48.6%) dos 109 *Rotavirus*, 34 (60.7%) das 56 EPEC e 14 (34.2%) das 41 *Salmonella*. A associação mais frequente foi entre *Rotavirus* e EPEC ou *Salmonella*.

Apenas em 7 (28%), das 25 crianças com parasitas, não foi identificado outro agente.

Nos **grupos II** e **III**, as associações foram, significativamente ($p<0.001$), menos frequentes do que no grupo I. Encontrámos associação de 2 agentes em apenas 3 (5%) das crianças do grupo I e em 2 (3,4%) do grupo III (Quadro 1.16).

Quadro 1.16 - Associação de agentes nas fezes de crianças com diarreia aguda ou assintomáticas:

	grupo I		grupo II		grupo III	
	nº	%	nº	%	nº	%
A. - associação de 2 agentes:						
Rotavirus mais EPEC	16	5.9	2	3.3	1	1.7
Rotavirus mais ETEC LT^+	6	2.2				
Rotavirus mais EAEC	2	0.7				
Rotavirus mais *Salmonella*	9	3.3				
Rotavirus mais *Campylobacter*	1	0.4				
Rotavirus mais*Yersinia*	1	0.4				
Rotavirus mais *Staphylococcus*	2	0.7				
Rotavirus mais *Candida*	1	0.4				
Rotavirus mais *Ascaris*	3	1.1			1	1.7
EPEC mais *Shigella*	3	1.1				
EPEC mais *Campylobacter*	2	0.7				
EPEC mais *Yersinia*	1	0.4				
EPEC mais *Salmonella*	2	0.7	1	1.7		
EPEC mais *Ascaris*	2	0.7				
ETEC LT^+ mais *Giardia*	1	0.4				
Campylobacter mais *Ascaris*	1	0.4				
Salmonella mais *Adenovirus*	1	0.4				
Ascaris mais *Trichiuris*	1	0.4				
Total	**55**	**20.2**	**3**	**5.0**	**2**	**3.3**
B. - associação de 3 agentes:						
Rotavirus mais EPEC e *Salmonella*	1	0.4				
Rotavirus mais EPEC e *Campylobacter*	1	0.4				
Rotavirus mais EPEC e *Candida*	1	0.4				
Rotavirus mais EPEC e *Ascaris*	3	1.1				
Rotavirus mais *Salmonella* e *Yersinia*	1	0.4				
Rotavirus mais *Staphylococcus* e *Candida*	1	0.4				
Rotavirus mais*Ascaris* e *Trichiuris*	1	0.4				
Rotavirus mais*Trichiuris* e *Candida*	1	0.4				
EPEC mais *Ascaris* e *Trichiuris*	1	0.4				
EIEC mais *Ascaris* e*Trichiuris*	1	0.4				
Salmonella mais *Ascaris* e *Trichiuris*	1	0.4				
Total	**13**	**4.8**	**0**	**0.0**	**0**	**0.0**
C. - associação de 4 agentes:						
Rotavirus mais EPEC e *Yersinia* e *Giardia*	1	0.4				
Rotavirus mais *Campyl., Ascaris* e *Trichiuri*	1	0.4				
Total	**2**	**0.8**	**0**	**0.0**	**0**	**0.0**
TOTAL	**70**	**25.7**	**3**	**5.0**	**2**	**3.3**

2. - FACTORES COM PROVÁVEL INFLUÊNCIA NA ETIOLOGIA DA DIARREIA *

2.1. - CONDIÇÕES CLIMÁTICAS

As características do clima no decurso do estudo, apreciadas pela temperatura (temp.) e humidade (hum.) médias, não diferem, significativamente, das observadas nos anos em que há registo (p>0.5) (Fig. 10).

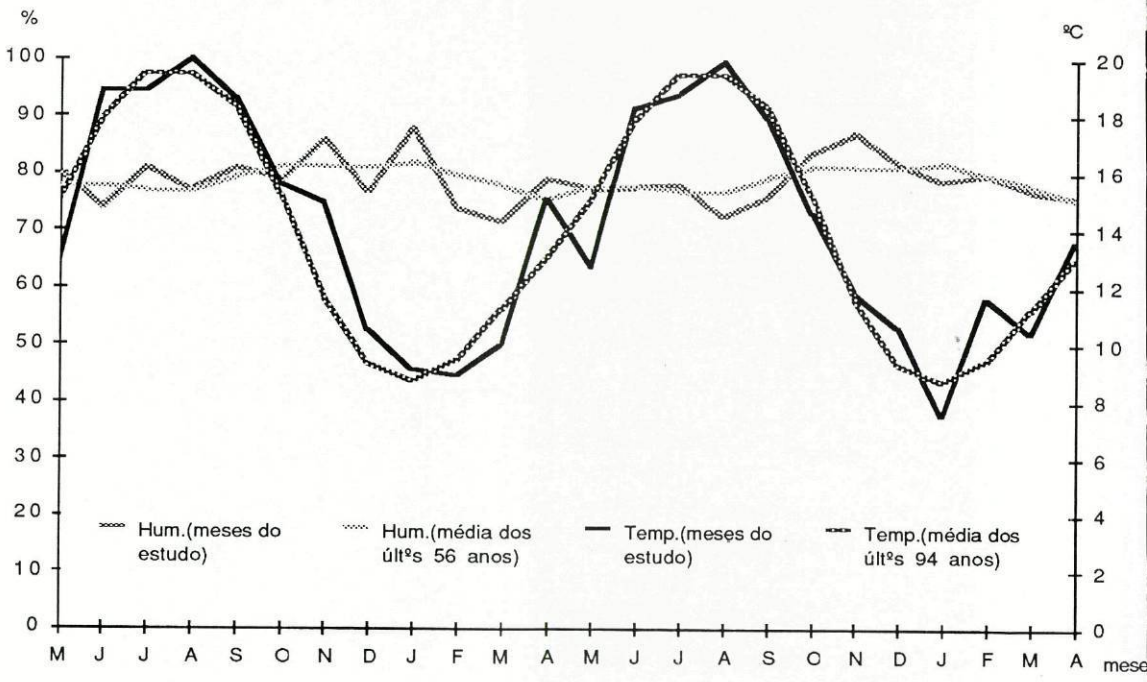

Fig.10 - Perfil da temperatura e humidade médias do ar: valores médios dos anos de que há registo e dos anos do estudo.

2.1.1. - Influência das condições climáticas na frequência dos agentes etiológicos (Figs. 11 e 12)

2.1.1.2. - Humidade

Considerando o conjunto dos resultados, apenas parece haver relação entre a humidade ambiente e a frequência de identificação de *Ascaris lumbricoides* (p≤0.05).

* Estes resultados referem-se apenas ao estudo efectuado nas crianças do Grupo I (272 crianças internadas com diarreia aguda).

2.1.1.2. - Temperatura (fig 11)

Apreciando globalmente os resultados, verificámos haver relação inversa entre a temperatura ambiente e a presença de *Rotavirus* ($p \leq 0.01$) e de ETEC ($p \leq 0.025$) e, directa, entre a temperatura e o número de casos de etiologia não esclarecida ($p \leq 0.05$). No entanto, se apreciarmos os resultados em cada ano do estudo, a temperatura ambiente influenciou, no primeiro ano, inversamente, a frequência de identificação de *Rotavirus* ($p \leq 0.05$), de *Yersinia enterocolitica* ($p \leq 0.05$) e de EPEC ($p \leq 0.05$) e, no segundo ano, apenas a de ETEC ($p \leq 0.01$).

A frequência de identificação de parasitas não foi significativamente afectada pela temperatura ambiente.

Comparando, para cada agente, a percentagem de crianças infectadas nos 3 meses mais quentes e nos 3 mais frios de cada ano do estudo, verificámos que para *Rotavirus* ($p \leq 0.005$), EPEC ($p \leq 0.05$) e ETEC ($p \leq 0.001$) foi significativamente maior no tempo frio. Nos meses quentes, foi mais frequente, embora sem significado estatístico, o isolamento de *Salmonella* ou de *Yersinia* e o número de doentes com diarreia de etiologia não esclarecida (Quadro 2.1).

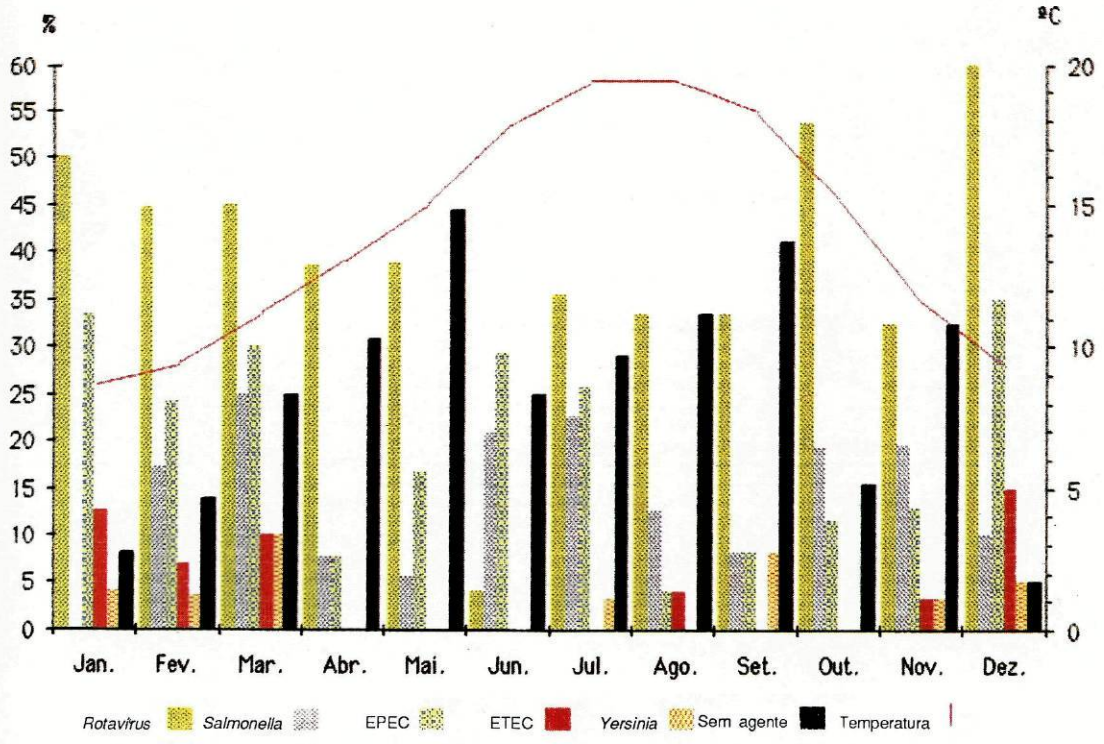

Fig. 11 - Distribuição estacional percentual de agentes seleccionados.

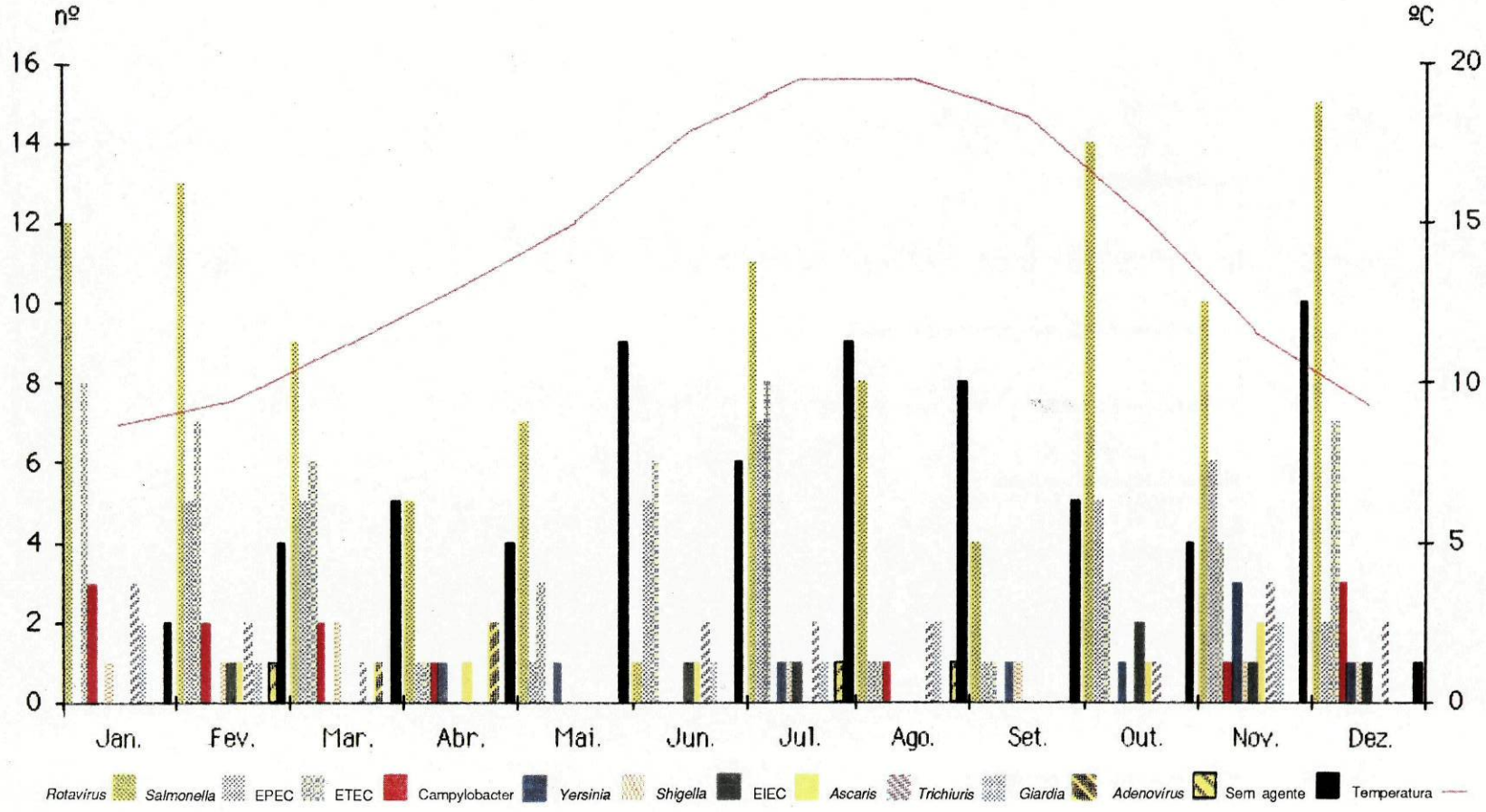

Fig. 12 — Distribuição estacional percentual dos agentes identificados.

Quadro 2.1 - Frequência de identificação dos agentes nos meses mais quentes e mais frios:

agente	total	meses mais quentes		meses mais frios	
	nº	nº	%	nº	%
Rotavirus	109	19	17.4	39	35.8
Adenovirus	3	1	33.3	2	66.7
EPEC	56	12	21.4	23	41.1
ETEC	13	1	7.7	7	53.9
EIEC	6	1	16.7	0	0.0
Salmonella	41	14	34.2	8	19.5
Campylobacter	9	1	11.1	1	11.1
Yersinia	8	2	25.0	5	62.5
Shigella	7	2	28.6	1	14.3
Staphylococcus	4	3	75.0	0	0.0
Candida	5	1	20.0	1	20.0
Ascaris	18	5	27.8	6	33.3
Trichiuris	8	3	37.5	2	25.0
Giardia	3	1	33.3	1	33.3
Sem agente	66	22	33.3	8	12.1
População	**272**	**72**	**26.5**	**71**	**26.1**

2.2. - IDADE E SEXO

A idade das 272 crianças do **Grupo I** (internadas por diarreia aguda) era de 9.5±11.4 (0.5-59) meses; era inferior a 12 meses em 74.6% e a 6 meses em 48.5% (Fig. 10).

Eram do sexo masculino 166 (61%) e, do sexo feminino, 106 (39%). O predomínio do sexo masculino apenas foi significativo, estatisticamente, em lactentes no primeiro semestre de vida ($p< 0.05$).

A distribuição, por idade e sexo, das crianças dos grupos II e III, não diferia, significativamente, da do grupo I.

Quadro 2.2 - Distribuição dos doentes do **grupo I** por idade e sexo:

Idade	total		sexo			
			masculino		feminino	
(meses)	nº	%	nº	%	nº	%
< 1	9	3.3	4	1.5	5	1.8
1 - 2	45	16.5	29	10.6	16	5.9
3 - 5	78	28.7	56	20.6	22	8.1
6 - 11	71	26.1	38	14.0	33	12.1
0 - 11	203	74.6	127	46.7	76	27.9
12 - 17	32	11.8	19	7.0	13	4.8
18 - 23	21	7.7	11	4.0	10	3.7
12 - 23	53	19.5	30	11.0	23	8.5
24 - 59	16	5.9	9	3.3	7	2.6
Total	**272**	**100.0**	**166**	**61.0**	**106**	**39.0**

Considerando, na população geral (INE), a distribuição da população por grupos etários, a incidência da diarreia é maior em crianças com menos de 6 meses de idade, após o período de recém nascido.

2.2.1. - Frequência dos agentes etiológicos e a idade e o sexo dos doentes (Quadro 2.3 e fig. 13)

Havia predomínio, significativo ($p \leq 0.0005$), de *Rotavirus* em crianças com idade entre os 3 e os 12 meses. Além disso, havia relação directa entre a idade dos doentes e a presença de *Shigella* ($p \leq 0.05$) e de parasitas ($p \leq 0.0001$). Entre os doentes com EPEC, o serogrupo O86 foi identificado, de forma significativa ($p \leq 0.005$), em crianças mais velhas (45±22.6 meses) e o serogrupo O111 em crianças mais jovens (4.5±0.5 meses). Nos doentes com *Salmonella*, a idade das crianças influenciou ($p \leq 0.05$), de forma directa, a frequência dos serotipos *enteritidis* (18.3±20.9 meses) e *tiphy* (20.5±24.7 meses) e, de forma inversa, dos serotipos 47:*r*:*z* (3.5±2.1 meses) e *tiphymurium* (5.0±3.6 meses).

Embora sem significado estatístico, a maior frequência de agentes enteropatogénicos em crianças do sexo feminino foi observada para EIEC, *Yersinia enterocolitica*, *Giardia lamblia* e *Candida albicans*. Nos doentes do sexo masculino, verificámos predomínio dos restantes agentes patogénicos mas, com significado estatístico, apenas de *Rotavirus* ($p \leq 0.0001$), EPEC ($p \leq 0.05$) e *Salmonella* ($p \leq 0.005$).

Não encontrámos relação entre o sexo dos doentes e a frequência dos diferentes serotipos de EPEC. Embora sem significado estatístico, todos os serotipos de *Salmonella*, excepto *derby*, *tiphymurium* e *tiphy*, foram mais vezes isolados em crianças do sexo masculino.

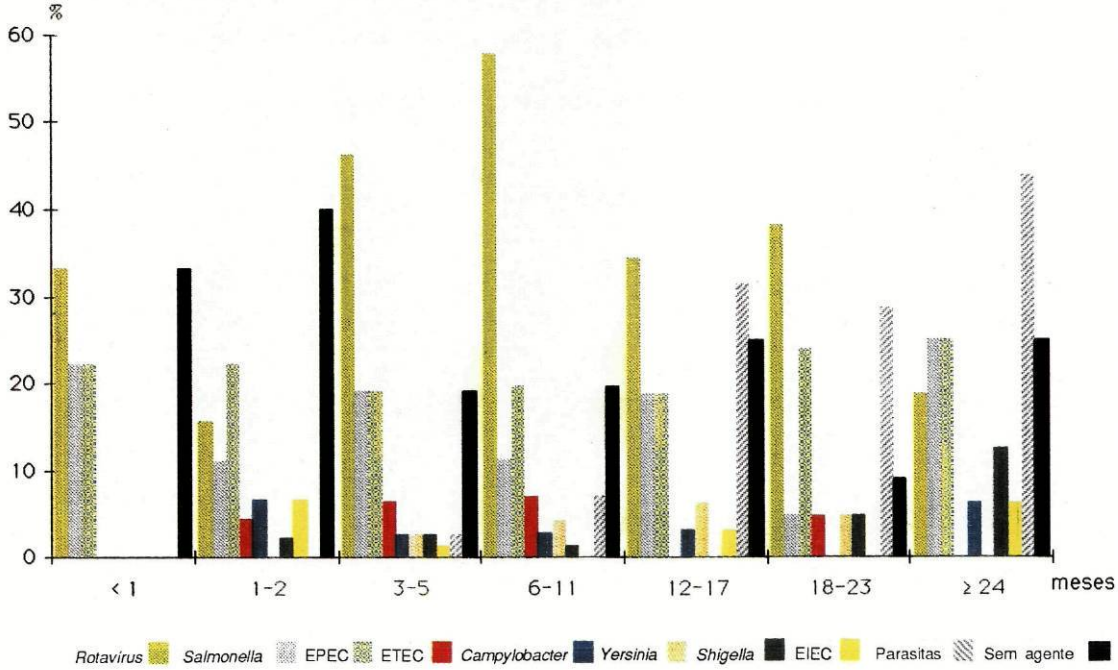

Fig. 13 - Distribuição etária percentual dos agentes identificados.

Quadro 2.3 - Relação entre a frequência dos agentes e a idade e sexo dos doentes:

agente	total	idade (meses)							sexo	
		<1	1-2	3-5	6-11	12-17	18-23	≤24	M	F
Rotavirus	109	3	7	36	41	11	8	3	71	38
Adenovirus	3	0	1	1	1	0	0	0	2	1
EPEC	56	2	10	15	14	6	5	4	35	21
ETEC LT+	12	0	2	4	5	0	1	0	6	6
ETEC ST+	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0
EIEC	6	0	3	1	0	1	0	1	1	5
Salmonella	41	2	5	15	8	6	1	4	28	13
Yersinia	8	0	0	2	3	2	1	0	2	6
Campylobacter	9	0	3	2	2	1	0	1	7	2
Shigella	7	0	1	2	1	0	1	2	5	2
Staphylococcus	4	0	0	2	1	1	0	0	3	1
Candida	5	0	2	0	2	1	0	0	2	3
Ascaris	18	0	0	2	2	4	4	6	12	6
Trichiuris	9	0	0	0	1	5	2	1	6	3
Giardia	3	0	0	0	2	1	0	0	0	3
Sem agente	66	3	18	15	14	8	4	4	40	26
Total	272	9	45	78	71	32	21	16	166	106

Se agruparmos os doentes de acordo com os agentes identificados nas fezes, e compararmos a idade dos doentes entre cada grupo (Quadro 2.4), verificámos que as crianças com **Parasitas** nas fezes eram significativamente mais velhas do que as com *Rotavirus* ($p \leq 0.005$), *Adenovirus* ($p \leq 0.05$), EPEC ($p \leq 0.05$), ETEC ($p \leq 0.005$), *Salmonella* ($p \leq 0.005$), *Campylobacter* ($p \leq 0.05$), *Candida albicans* ($p \leq 0.050$ ou Sem agente ($p \leq 0.005$). Também as crianças com ***Shigella*** eram mais velhas do que as com *Rotavirus* ($p \leq 0.025$), ETEC ($p \leq 0.05$) ou Sem agente ($p \leq 0.05$).

Quadro 2.4 - Agentes isolados e idade média dos doentes:

	total	idade (meses)	
	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito
Rotavirus	109	8.7 ± 9.1	0.5 - 60
Adenovirus	3	4.0 ± 2.6	2.0 - 7
EPEC	56	10.7 ± 14.1	0.5 - 60
ETEC	13	7.5 ± 5.5	2.0 - 22
EIEC	6	12.3 ± 19.9	1.5 - 52
Salmonella	41	10.3 ± 13.2	0.6 - 60
Yersinia	8	11.3 ± 6.4	3.0 - 21
Campylobacter	9	10.6 ± 14.5	1.0 - 47
Shigella	7	17.6 ± 18.1	2.0 - 48
Staphylococcus	4	8.0 ± 6.0	3.0 - 15
Candida albicans	5	7.4 ± 5.9	1.0 - 15
Ascaris	18	24.2 ± 20.3	4.0 - 60
Trichiuris	9	19.4 ± 14.1	11.0 - 56
Giardia	3	13.0 ± 5.3	9.0 - 60
Sem agente	66	8.4 ± 11.1	0.6 - 59
População	272	**9.5 ± 14.1**	**0.5 - 60**

2.3. - ALIMENTAÇÃO

2.3.1. - Tipo e evolução do aleitamento (fig. 14)

Cento e oitenta e oito (69.1%) crianças iniciaram a alimentação com leite materno, 64 (23.5%) com leites industriais e 20 (7.4%) com leite de vaca fresco. Com 3 meses de idade apenas 22% das crianças tomavam leite materno; após os 4 meses predominava, percentualmente, o leite de vaca fresco.

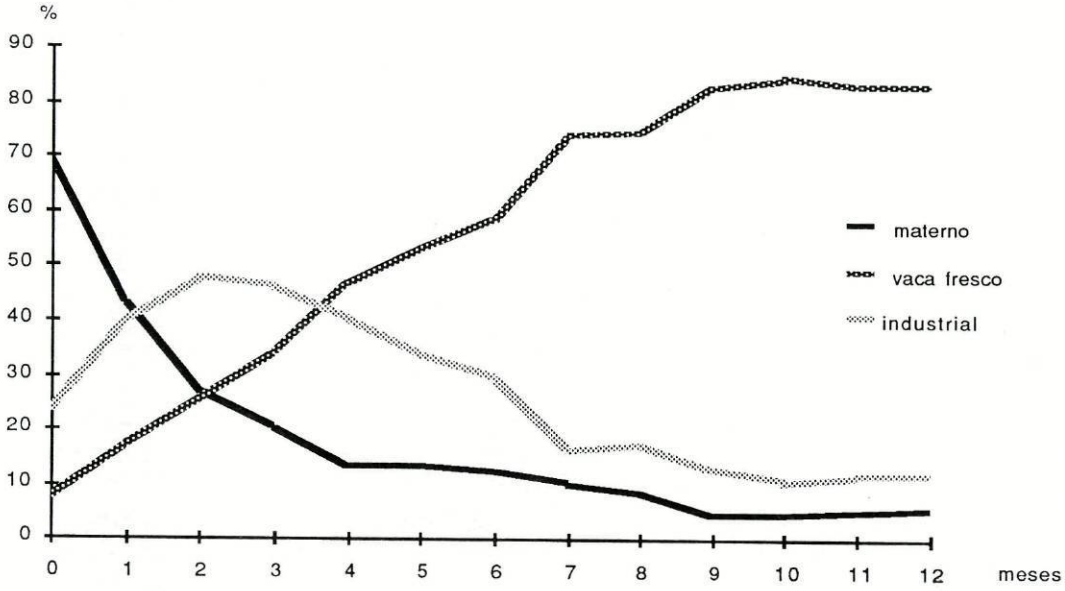

Fig. 14 - Evolução do aleitamento.

2.3.2. - Alimentação no momento da diarreia (Quadro 2.5)

Quando surgiu a diarreia, 79 (29%) das crianças tinham regime alimentar exclusivamente lácteo: destas, 3 (3.8%) com leite materno, 37 (46.8%) com leite industrial e 39 (49.4%) com leite de vaca fresco.

Das restantes 193 (71%) crianças, com alimentação diversificada iniciada aos 3.7±1.2 (1.5-12) meses de idade, 5 (2.6%) tomavam leite materno, 34 (17.6%) leite industrial e 154 (79.8%) leite de vaca fresco.

Quadro 2.5 - Tipo de alimentação no início da diarreia:

	láctea		diversificada		total	
leite	nº	%	nº	%	nº	%
materno*	3	1.1	5	1.8	8	2.9
industrial	37	13.6	34	12.5	71	26.1
de vaca fresco	39	14.3	154	56.7	193	71.0
Total	**72**	**29.0**	**193**	**71.0**	**272**	**100.0**

* engloba os doentes com aleitamento materno exclusivo ou misto.

2.3.3. - Frequência dos agentes etiológicos e tipo de alimentação (Quadro 2.6)

A frequência relativa dos agentes não foi, significativamente, influenciada pelo tipo de alimentação das crianças. De salientar que, dos 8 doentes com aleitamento materno, 5 dos quais já com diversificação do regime alimentar, apenas em 3 identificámos agente patogénico: em 2, *Rotavirus* e, em 1, *Campylobacter*.

Quadro 2.6 -Agentes isolados e tipo de alimentação dos doentes:

agente	total	alimento exclusivo						regime diversificado					
		l.m.		l.i.		l.v.		l.m.		l.i.		l.v.	
		nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Rotavirus	109	1	0.9	9	8.3	12	11.0	1	0.9	16	14.7	70	64.2
Adenovirus	3	0	0.0	2	66.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	33.3
EPEC	56	0	0.0	6	10.7	8	14.3	0	0.0	8	14.3	34	60.7
ETEC	13	0	0.0	2	15.4	2	15.4	0	0.0	3	23.1	6	46.2
EIEC	6	0	0.0	1	16.7	2	33.3	0	0.0	1	16.7	2	33.3
Salmonella	41	0	0.0	9	22.0	2	4.9	0	0.0	5	12.2	25	60.9
Campylobacter	9	0	0.0	0	0.0	3	33.3	1	11.1	2	22.2	3	33.3
Yersinia	8	0	0.0	1	12.5	0	0.0	0	0.0	0	0.0	7	87.5
Shigella	7	0	0.0	1	14.3	1	14.3	0	0.0	0	0.0	5	71.4
Staphylococcus	4	0	0.0	0	0.0	1	25.0	0	0.0	0	0.0	3	75.0
Candida	5	0	0.0	1	20.0	1	20.0	0	0.0	0	0.0	3	100.0
Ascaris	18	0	0.0	0	0.0	1	5.6	0	0.0	1	5.6	16	88.8
Trichiuris	9	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	11.1	8	88.9
Giardia	3	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	33.3	2	66.7
Sem agente	66	2	3.0	11	16.7	14	21.2	3	4.6	8	12.1	28	42.4
População	**272**	**3**	**1.1**	**37**	**13.6**	**39**	**14.3**	**5**	**1.8**	**34**	**12.5**	**154**	**56.7**

l.m. - leite materno; l.i. - leite industrial; l.v. - leite de vaca fresco.

2.4. - SITUAÇÃO NUTRICIONAL

Das 272 crianças do **grupo I**, 112 (41.2%) tinham carência nutricional, sendo ligeira em 47 (17.2%), moderada em 42 (15.5%) e grave em 18 (6.7%); 5 (1.8%) tinham nanismo nutricional (Quadros 2.7 e 2.8).

A frequência de carência nutricional foi inversamente influenciada pela idade dos doentes ($p<0.05$), predominando em lactentes com menos de 3 meses; no entanto, a idade média de crianças com nanismo nutricional era, significativamente, mais elevada ($p\leq0.005$).

Crianças malnutridas provinham, mais vezes, de famílias com:

- tipo social menos favorecido ($p\leq0.01$), em que predominavam habitações sem condições sanitárias mínimas {esgotos ($p\leq0.025$), água canalizada ($p\leq0.05$) e casa de banho ($p\leq0.05$)}.
- maior número de irmãos ($p\leq0.005$), em maiores agregados familiares ($p\leq0.025$).
- progenitores com menos instrução ($p\leq0.01$) e menores rendimentos económicos ($p\leq0.025$).

As crianças de origem urbana eram, embora não significativamente ($p\leq0.1$), mais bem nutridas.

Quadro 2.7 - Situação nutricional nos vários grupos etários:

idade (meses)	total nº	eutrofia obesidade nº	%	carência nutricional leve nº	%	moderada nº	%	grave nº	%	nanismo nº	%
< 1	9	2	22.2	4	44.5	3	33.3	0	0.0	0	0.0
1 - 2	45	20	44.4	7	15.6	10	22.2	7	15.6	1	2.2
3 - 5	78	49	62.8	13	16.4	10	12.7	5	6.3	1	1.3
6 - 11	71	45	63.4	12	16.9	12	16.9	2	2.8	0	0.0
0 - 11	**203**	**116**	**57.1**	**36**	**17.7**	**35**	**17.2**	**14**	**6.9**	**2**	**1.0**
12 - 17	32	19	59.4	6	18.7	4	12.5	3	9.4	0	0.0
18 - 23	21	12	57.1	4	19.0	3	14.3	1	4.8	1	4.8
12 - 23	**53**	**31**	**58.5**	**10**	**18.8**	**7**	**13.2**	**4**	**7.6**	**1**	**1.9**
24 - 59	**16**	**13**	**81.3**	**1**	**6.7**	**0**	**0.0**	**0**	**0.0**	**2**	**13.3**
Total	**272**	**160**	**58.8**	**47**	**17.2**	**42**	**15.5**	**18**	**6.7**	**5**	**1.8**

Quadro 2.8 - Situação nutricional e idade média dos doentes:

	total nº	idade (meses) $\bar{x} \pm s$	âmbito
Eutrofia/obesidade	**160**	**10.8 ± 12.6**	**0.6 - 60**
Carência nutricional	**112**	**7.7 ± 9.0**	**0.5 - 56**
ligeira	47	7.9 ± 9.0	0.5 - 56
moderada	42	6.4 ± 5.4	0.6 - 22
grave	18	6.0 ± 5.4	1.0 - 18
nanismo nutricional	5	23.5 ± 23.6	1.6 - 60
População	**272**	**9.5 ± 11.4**	**0.5 - 60**

2.4.1. - Frequência dos agentes e situação nutricional dos doentes (Quadro 2.9)

Todos os doentes com *Staphylococcus aureus*, 87.5% dos doentes com *Yersinia enterocolitica*, 80% dos doentes com *Candida albicans* e 70.4% dos doentes com *Rotavirus*, eram bem nutridos. No entanto, apenas a maior frequência de *Rotavirus* em crianças eutróficas ou obesas era significativa ($p \leq 0.005$) quando comparada com a de ETEC ($p \leq 0.05$), *Salmonella* ($p \leq 0.05$) ou de etiologia não esclarecida ($p \leq 0.005$).

A não identificação de agentes patogénicos foi mais frequente em crianças malnutridas ($p \leq 0.05$).

A frequência dos outros agentes, e dos serotipos de *Salmonella* e EPEC, não foi influenciada, de forma significativa, pela situação nutricional dos doentes.

Quadro 2.9 - Relação entre a identificação dos agentes e a situação nutricional dos doentes:

agente	total	eutrofia obesidade		carência nutricional leve		moderada		grave		nanismo	
	nº	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Rotavirus	109	76	70.4	13	12.0	15	13.8	2	1.9	2	1.9
Adenovirus	3	2	66.7	0	0.0	1	22.3	0	0.0	0	0.0
EPEC	56	30	53.5	10	17.9	10	17.9	5	8.9	1	1.8
ETEC	13	9	69.2	1	7.7	2	15.4	0	0.0	0	0.0
EIEC	6	2	33.3	2	33.3	1	16.7	1	16.7	0	0.0
Salmonella	41	19	46.3	9	22.0	8	19.5	2	4.9	3	7.3
Yersinia	8	7	87.5	0	0.0	0	0.0	1	12.5	0	0.0
Campylobacter	9	4	44.5	1	11.1	2	22.2	2	22.2	0	0.0
Shigella	7	5	71.4	0	0.0	1	14.3	1	14.3	0	0.0
Staphylococcus	4	4	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Candida	5	4	80.0	0	0.0	1	20.0	0	0.0	0	0.0
Ascaris	18	11	61.1	3	16.7	4	22.2	0	0.0	0	0.0
Trichiuris	9	3	33.3	3	33.3	2	22.2	1	11.1	0	0.0
Giardia	3	2	66.7	0	0.0	1	33.3	0	0.0	0	0.0
Sem agente	66	30	45.4	19	28.8	10	15.1	5	7.7	2	3.0
População	**272**	**160**	**56.8**	**47**	**17.2**	**42**	**15.5**	**18**	**6.7**	**5**	**1.8**

2.5. - SITUAÇÃO SOCIAL

Caracterizámos a situação social dos doentes do grupo I utilizando a escala de Graffar,[299] modificada, pela apreciação de vários parâmetros: profissão, salário e instrução dos progenitores, condições da habitação (disponibilidade de água corrente, esgotos, casa de banho e luz eléctrica).

2.5.1. - Profissão e salário dos progenitores (Quadro 2.10)

Comparando as 3 zonas de origem dos doentes, a categoria profissional e o salário dos progenitores foram significativamente superiores nas zonas urbanas ($p \leq 0.005$) e inferiores nas degradadas ($p \leq 0.005$).

Quadro 2.10 - Categoria profissional e salário dos progenitores:

classe [1]	classe profissional pai		classe profissional mãe		salário pai		salário mãe	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
1	4	1.5	3	1.1	9	3.4	0	0.0
2	1	0.4	1	0.4	27	10.4	11	4.2
3	20	7.7	9	3.4	146	55.6	49	18.5
4	177	67.8	55	20.8	72	27.6	41	15.4
5	59	22.6	197	74.3	7	2.7	164°	61.9
total*	**261**	**100.0**	**265**	**100.0**	**261**	**100.0**	**265**	**100.0**

(1) Escala de Graffar; [299] * 11 sem informação; ° incluí 127 mães domésticas.

2.5.2. - Instrução dos progenitores (Quadro 2.11)

Trinta (7.5%) dos progenitores eram analfabetos, 179 (33.5%) não completaram a instrução primária e apenas 3 (0.6%) tinham formação universitária. O grau de instrução dos progenitores era menor nas zonas rurais ($p \leq 0.005$) e urbanas degradadas ($p \leq 0.0001$) e maior nas zonas urbanas ($p \leq 0.0001$).

Quadro 2.11 - Grau de instrução dos progenitores:

formação	pai*		mãe•	
	nº	%	nº	%
Universitária	1	0.4	2	0.7
Secundária	22	8.3	20	7.4
Primária	134	50.6	136	50.6
Primária (incompleta)	94	35.4	85	31.2
Analfabeto	14	5.3	26	9.7
Total	**265**	**100.0**	**269**	**100.0**

* 7 sem informação; • 3 sem informação

2.5.3. - Área de residência e condições da habitação (Quadro 2.12)

Cento e onze (41.0%) doentes provinham de zonas rurais, 100 (36.9%) de zonas urbanas e 60 (22.1%) de zonas urbanas degradadas. As condições sanitárias da habitação eram diferentes nas 3 zonas: a disponibilidade de água canalizada, de esgotos ligados à rede geral e de casa de banho era, significativamente, maior nas zonas urbanas ($p \leq 0.0001$); dispunha de luz eléctrica a maioria das habitações urbanas e rurais e, apenas, 49.2% das habitações degradadas ($p \leq 0.0001$).

Quadro 2.12 - Tipo e condições sanitárias da habitação (nº e % de casas que dispunham de água, esgotos, casa de banho ou luz eléctrica):

tipo	total		água		esgotos		casa de banho		luz	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Rural	111	41.0	27	24.6	19	17.3	32	29.1	105	95.5
Urbana	100	36.9	98	98.0	99	99.0	97	97.0	99	99.0
Degradada	60	22.1	4	6.8	2	3.4	0	0.0	29	49.2
Total*	**271**	**100.0**	**129**	**48.1**	**120**	**44.8**	**129**	**48.1**	**233**	**86.9**

* 1 sem informação.

2.5.3.1. - Frequência dos agentes etiológicos e área de residência e condições da habitação (Quadro 2.13 e 2.14)

A frequência relativa dos agentes identificados não foi significativamente influenciada pela área de residência ou pelas condições da habitação. No entanto, embora a ocorrência dos vários serotipos de *Salmonella* não fosse significativamente afectada pela área de residência, em crianças de origem rural não identificámos os serotipos *heidelberg*, *derby* e *tiphy*.

Quadro 2.13 - Frequência dos agentes e área de residência:

agente	total	rural		urbana		degradada	
	nº	nº	%	nº	%	nº	%
Rotavirus	108	39	36.1	47	43.5	22	20.4
Adenovirus	3	1	33.3	2	66.7	0	0.0
EPEC	55	24	43.6	20	36.4	11	20.0
ETEC	13	7	53.8	4	30.8	2	15.4
EIEC	6	3	50.0	2	33.3	1	16.7
Salmonella	41	14	34.1	17	41.5	10	24.4
Campylobacter	8	2	25.0	5	62.5	1	12.5
Yersinia	8	3	37.5	2	25.0	3	37.5
Shigella	7	2	28.6	4	57.1	1	14.3
Candida	5	2	40.0	1	20.0	2	40.0
Ascaris	18	7	38.9	6	33.3	5	27.8
Trichiuris	9	7	77.8	1	11.1	1	11.1
Giardia	3	1	33.3	2	66.7	0	0.0
Sem agente	66	26	39.4	21	31.8	18	28.8
População	**271***	**111**	**40.9**	**100**	**36.9**	**60**	**22.2**

* 1 sem informação

Quadro 2.14 - Frequência dos agentes e condições da habitação:

tipo	total	água		esgotos		casa de banho		luz	
	nº	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Rotavirus	106	56	52.8	54	50.9	57	53.8	99	93.4
Adenovirus	3	2	66.7	2	66.7	2	66.7	3	100.0
EPEC	56	28	50.0	24	42.9	24	42.9	48	85.7
ETEC	13	5	38.5	5	38.5	6	46.2	11	84.6
EIEC	6	3	50.0	4	66.7	4	66.7	5	83.3
Salmonella	41	22	53.7	20	48.8	21	51.2	36	87.8
Yersinia	8	2	25.0	3	37.5	2	25.0	6	75.0
Campylobacter	8	5	62.5	5	62.5	5	62.5	7	87.5
Shigella	7	3	42.9	3	42.9	3	42.9	6	85.3
Candida	5	2	40.0	2	40.0	2	40.0	5	100.0
Ascaris	18	6	33.3	6	33.3	7	38.9	16	88.9
Trichiuris	9	3	33.3	3	33.3	4	44.4	8	88.9
Giardia	3	2	66.7	2	66.7	2	66.7	3	100.0
Sem agente	66	29	43.9	24	36.4	28	42.4	51	77.3
População	**268***	**129**	**48.1**	**120**	**44.8**	**129**	**48.1**	**233**	**86.9**

* 4 sem informação
número e percentagem das casas que dispõem de água corrente, esgotos, casa de banho completa e luz eléctrica.

2.5.6. - Tipo social (Quadro 2.15)

Duzentas e trinta e uma crianças (85.5%) pertenciam a tipos sociais menos favorecidos (classes 4 e 5). A frequência do tipo social menos favorecido foi maior nas crianças de menor idade ($p \leq 0.025$), de origem rural ($p \leq 0.05$) ou urbana degradada ($p \leq 0.001$) e menor nas crianças de origem urbana ($p \leq 0.0001$).

Quadro 2.15 - Tipo social (Escala de Graffard,[299] adaptada):

classe	nº	%
1	3	1.1
2	8	3.0
3	28	10.4
4	136	50.4
5	95	35.1
Total*	**270**	**100.0**

* 2 sem informação

2.5.4.1. - Frequência dos agentes etiológicos e tipo social dos doentes (Quadro 2.16)

Não encontrámos evidência de influência do tipo social dos doentes na frequência relativa dos agentes identificados.

Quadro 2.16 - Frequência dos agentes e tipo social dos doentes:

agentes	total	tipo social									
		1		2		3		4		5	
	nº	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Rotavirus	108	2	1.9	7	6.5	12	11.1	54	50.0	33	30.5
Adenovirus	3	0	0.0	0	0.0	2	66.7	0	0.0	1	33.3
EPEC	55	0	0.0	3	5.5	4	7.3	26	47.2	22	40.0
ETEC	13	0	0.0	0	0.0	1	7.7	8	61.5	4	30.8
EIEC	6	0	0.0	0	0.0	0	0.0	4	66.7	2	33.3
Salmonella	41	1	2.4	1	2.4	6	14.6	19	46.3	14	34.1
Campylobacter	8	0	0.0	0	0.0	1	12.5	5	62.5	2	25.0
Yersinia	8	0	0.0	0	0.0	1	12.5	5	62.5	2	25.0
Shigella	7	0	0.0	0	0.0	1	14.2	3	42.9	3	42.9
Staphylococcus	4	0	0.0	1	25.0	0	0.0	2	50.0	1	25.0
Candida	5	0	0.0	0	0.0	1	20.0	2	40.0	2	40.0
Ascaris	18	0	0.0	3	16.7	0	0.0	10	55.6	5	27.8
Trichiuris	9	0	0.0	0	0.0	2	22.2	3	33.3	4	44.4
Giardia	3	0	0.0	0	0.0	0	0.0	3	100.0	0	0.0
Sem agente	65	1	1.5	0	0.0	6	9.2	34	52.3	24	36.9
População	**270**	**3**	**1.1**	**8**	**3.0**	**28**	**10.4**	**136**	**50.4**	**95**	**35.1**

2.5.5. - Composição do agregado familiar (Quadro 2.17)

O número médio de pessoas por agregado familiar, 5.3±2.1(1-15), maior nos tipos sociais menos favorecidos ($p \leq 0.0005$), não foi influenciado pela área de residência.

O doente era o único filho em 79 (29.6%) famílias. O número de irmãos, directamente correlacionado com as más condições sociais ($p \leq 0.005$) e o menor grau de instrução dos pais ($p \leq 0.0001$), era maior nas famílias de zonas urbanas degradadas ($p \leq 0.05$), menor nas de zonas urbanas ($p \leq 0.005$) e não foi influenciado pela origem rural.

Quadro 2.17 - Composição de agregado familiar (número e percentagem do total):

nº(1)	nº	%
3	48	17.6
4	69	25.3
5	57	21.0
6	35	12.9
7	22	8.1
8	17	6.2
9	7	2.6
10	4	1.5
11	5	1.8
12	1	0.4
13	1	0.4
14	0	0.0
15	2	0.7
s/inf.	4	1.5

(1) pessoas por agregado.

2.5.5.1. - Frequência dos agentes etiológicos e composição do agregado familiar (Quadro 2.18)

Não encontrámos evidência de influência da composição do agregado familiar na frequência relativa dos agentes etiológicos.

2.5.6. - Tipo de cuidados prestados às crianças (Quadro 2.19)

Cento e oitenta e quatro (68.2%) das crianças estavam ao cuidado dos pais, 38 (14.1%) dos avós, e 48 (17.7%) de amas ou infantários. A percentagem de crianças cuidadas por amas ou infantários foi maior em famílias de classe social mais favorecidas ($p \leq 0.0001$) e também maior nas de zonas urbanas (25%) ($p \leq 0.05$) que nas de zonas rurais (15.3%) ou urbanas degradadas (10.2%).

Quadro 2.19 - Crianças cuidadas por:

	nº	%
Pais	184	68.2
Avós	38	14.1
Outros	48	17.7
Total	**270***	**100.0**

* 2 sem informação

2.5.6.1. - Frequência dos agentes etiológicos e tipo de cuidados prestados às crianças (Quadro 2.20)

Não encontrámos evidência de influência do tipo de cuidados prestados aos doentes na frequência relativa dos agentes etiológicos.

Quadro 2.18 - Frequência dos agentes e composição do agregado familiar:

agente	total	número de pessoas por agregado familiar													
		3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	s/i
	nº	nº %	nº %	nº %	nº %	nº %	nº %	nº %	nº %	nº %	nº %	nº %	nº %	nº %	nº %
Rotavirus	109	19 17.4	27 24.7	18 16.5	13 11.9	13 11.9	8 7.3	5 4.6	0 0.0	3 2.8	0 0.0	1 0.9	0 0.0	0 0.0	2 1.8
Adenovirus	3	0 0.0	2 66.7	1 33.3	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0
EPEC	56	14 25.0	11 19.7	11 19.7	8 14.3	3 5.4	3 5.4	1 1.8	1 1.8	1 1.8	1 1.8	0 0.0	0 0.0	0 0.0	2 3.6
ETEC	13	1 7.7	9 69.2	1 7.7	0 0.0	1 7.7	0 0.0	0 0.0	0 0.0	1 7.7	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0
EIEC	6	1 16.7	2 33.3	3 50.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0
Salmonella	41	9 22.0	7 17.1	12 29.3	4 9.7	4 9.7	4 9.7	1 2.4	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0
Campylobacter	9	3 33.3	1 11.1	0 0.0	2 22.2	0 0.0	2 22.2	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	1 11.1
Yersinia	8	1 12.5	2 25.0	2 25.0	2 25.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	1 12.5	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0
Shigella	7	2 28.7	1 14.3	1 14.3	3 42.9	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0
Ascaris	18	2 11.1	3 16.7	6 33.3	2 11.1	0 0.0	3 16.7	1 5.6	0 0.0	1 5.6	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0
Trichiuris	9	1 11.1	3 33.3	1 11.1	1 11.1	0 0.0	2 22.2	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	1 11.1	0 0.0	0 0.0
Giardia	3	0 0.0	1 33.3	1 33.3	1 33.3	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0
Sem agente	66	9 13.6	16 24.2	19 28.8	10 15.2	7 10.6	4 6.1	1 1.5	2 3.0	2 3.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	1 1.5
População	272	**48 17.6**	**69 25.3**	**57 21.0**	**35 12.9**	**22 8.1**	**17 6.2**	**7 2.6**	**4 1.5**	**3 1.1**	**1 0.4**	**1 0.4**	**0 0.0**	**2 0.7**	**4 1.5**

Quadro 2.20 - Frequência dos agentes e tipo de cuidados à criança (pais, avós ou por amas ou infantários):

agente	total	pais		avós		outros	
	nº	nº	%	nº	%	nº	%
Rotavirus	107	66	61.7	19	17.8	22	20.6
Adenovirus	3	2	66.7	1	33.3	0	0.0
EPEC	54	39	72.3	8	14.8	7	12.9
ETEC	13	9	69.2	2	15.4	2	15.4
EIEC	6	6	100.0	0	0.0	0	0.0
Salmonella	41	28	68.3	6	14.6	7	17.1
Campylobacter	8	5	62.5	2	25.0	1	12.5
Yersinia	8	7	87.5	0	0.0	1	12.5
Shigella	7	5	71.4	1	14.3	1	14.3
Candida	5	2	40.0	0	0.0	3	60.0
Ascaris	18	11	61.1	4	22.2	3	16.7
Trichiuris	9	6	66.7	2	22.2	1	11.1
Giardia	3	2	66.7	0	0.0	1	33.3
Sem agente	66	45	68.2	5	7.6	16	24.2
População	**270**	**184**	**68.2**	**3**	**14.1**	**48**	**17.7**

2.6. - INFLUÊNCIA DO USO DE ANTIBIÓTICOS NA IDENTIFICAÇÃO DOS AGENTES MICROBIANO (Quadro 2.21)

Antes do internamento, e no decurso da doença que o motivou, 91 (33.5%) das crianças tomaram antibióticos. Esta terapêutica influenciou, directamente, a frequência de identificação, nas fezes, de *Rotavirus* ($p \leq 0.0001$), ETEC ($p \leq 0.05$) e *Candida albicans* ($p \leq 0.01$) e, inversamente, a frequência de diarreia de etiologia não esclarecida ($p \leq 0.01$).

Quadro 2.21 - Agentes identificados em crianças que tomaram antibióticos antes do internamento:

agente	total	antibioterapia		
	nº	nº	% (1)	% (2)
Rotavirus	109	51	46.8	56.0
Adenovirus	3	0	0.0	0.0
EPEC	56	18	32.1	19.8
ETEC	13	8	61.5	8.8
EIEC	6	3	50.0	3.3
EAEC	5	3	60.0	3.3
Salmonella	41	13	31.7	14.3
Campylobacter	9	3	33.3	3.3
Yersinia	8	3	37.5	3.3
Shigella	7	3	42.9	3.3
Staphylococcus	4	2	50.0	2.2
Candida	5	5	100.0	5.5
Ascaris	18	4	22.2	4.4
Trichiuris	9	3	33.3	3.3
Giardia	3	1	33.3	1.1
Sem agente	66	13	19.7	14.3
População	**272**	**91**	**33.5**	**100.0**

(1) percentagem relativa ao número de crianças com cada agente. (2) percentagem relativa ao total de crianças que tomaram antibióticos.

3. - ETIOLOGIA E EXPRESSÃO CLÍNICA DA DIARREIA*

Nos 272 doentes do **Grupo I** (crianças internadas com diarreia aguda) apreciámos globalmente os aspectos clínicos, analíticos e epidemiológicos da diarreia.

Na tentativa de identificar particularidades associadas a cada agente etiológico, agrupámos os doentes acordo com os seguintes critérios:

População (nº=272)	conjunto dos doentes.
Rotavirus (nº=56)	doentes em que apenas identificámos *Rotavirus*.
Rotavirus **c/s** (nº=41)	doentes do grupo *Rotavirus* com seroconversão do título de anticorpos antirrotavírus.
Rotavirus **s/s** (nº=9)	doentes do grupo *Rotavirus* sem seroconversão do título de anticorpos antirrotavírus.
EPEC (nº=22)	doentes em que apenas identificámos EPEC.
ETEC nº=6)	doentes em que apenas identificámos ETEC.
EIEC (nº=5)	doentes em que apenas identificámos EIEC.
Salmonella (nº=27)	doentes em que apenas identificámos *Salmonella*.
Yersinia (nº=4)	doentes em que apenas identificámos *Yersinia enterocolitica*.
Campylobacter (nº=3)	doentes em que apenas identificámos *Campylobacter jejuni*.
Shigella (nº=4)	doentes em que apenas identificámos *Shigella*.
Bactérias invasivas (nº=53)	doentes em que apenas isolámos bactérias invasivas, associadas ou não entre si.
Rotavirus/**bactérias invasivas** (nº16)	doentes com seroconversão do título de anticorpos específicos para *Rotavirus* e com associação de *Rotavirus* e bactérias invasivas.
Rotavirus/**EPEC** (nº=16)	doentes com associação de *Rotavirus* e EPEC.
Rotavirus/**ETEC** (nº=6)	doentes com associação de *Rotavirus* e ETEC.
Parasitas (nº=6)	doentes apenas com parasitas.
Sem agente (nº=66)	crianças em que não identificámos qualquer agente infeccioso.

* Estes resultados referem-se apenas ao estudo efectuado nas crianças do Grupo I (272 crianças internadas com diarreia aguda).

3.1. - DIAS DE DIARREIA E NÚMERO DE DEJECÇÕES NO 1º DIA DE INTERNAMENTO (Quadro 3.1)

O número de dias de diarreia, antes do internamento, foi de 3.2±2.8 (0.3-15); 85 (31.3%) crianças foram internadas no primeiro dia de diarreia e, apenas 11 (4.0%), após mais de 1 semana. As de origem urbana foram internadas mais precocemente (p≤0.025) e as de origem rural, embora de forma não significativa, mais tardiamente.

O número médio de dejecções, no primeiro dia de internamento, 7.1±2.3 (2-15), foi influenciado, inversamente (p≤0.025), pela idade dos doentes.

Quadro 3.1 - Dias de diarreia antes do internamento e número de dejecções no primeiro dia de internamento:

	$\bar{x} \pm s$	âmbito
Dias de diarreia	3.2 ± 2.8	0.3 - 15
Número de dejecções	7.1 ± 2.3	2.0 - 15

3.1.1. - Etiologia e dias de diarreia antes do internamento (Quadro 3.2)

O número de dias de diarreia antes do internamento foi significativamente diferente entre:

- o grupo ***Rotavirus*** e os grupos *Salmonella* (p≤0.01), *Yersinia* (p≤0.0001), *Campylobacter* (p≤0.01), ETEC (p≤0.0001), *Rotavirus*/EPEC (p≤0.01) ou Bactérias invasivas (p≤0.01).
- o grupo **EPEC** e os grupos ETEC (p≤0.025), *Salmonella* (p≤0.05), *Yersinia* (p≤0.005), *Campylobacter* (p≤0.025) ou Bactérias invasivas (p≤0.05).
- *Yersinia* e *Rotavirus*/bactérias invasivas (p≤0.025), Sem agente (p≤0.05) ou os outros doentes em conjunto (p≤0.025).
- o grupo ***Rotavirus*/bactérias invasivas** e o grupo *Rotavirus*/EPEC.
- os grupos ***Salmonella*** e **Bactérias invasivas** se comparadas com o resto da população (p≤0.025 e p≤0.005).

Quadro 3.2 - Dias de diarreia antes do internamento e número de dejecções no primeiro dia de internamento:

Etiologia	total	dias de diarreia		nº de dejecções/dia	
	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito	$\bar{x} \pm s$	âmbito
Rotavirus	56	2.6 ± 1.5	0.3 - 8	7.4 ± 2.5	3 - 15
Rotavirus c/s	41	2.6 ± 1.6	0.3 - 8	7.2 ± 2.4	3 - 12
Rotavirus s/s	9	2.9 ± 1.8	1.0 - 6	8.1 ± 1.3	6 - 10
EPEC	22	2.3 ± 1.5	0.5 - 6	7.6 ± 2.7	3 - 12
ETEC	6	4.6 ± 3.3	1.0 - 10	6.0 ± 0.8	5 - 7
EIEC	5	2.3 ± 1.5	0.5 - 4	6.6 ± 2.4	4 - 10
Salmonella	27	4.3 ± 4.3	1.0 - 15	7.1 ± 2.5	3 - 15
Yersinia	4	6.5 ± 4.8	1.0 - 11	8.3 ± 1.3	7 - 10
Campylobacter	3	5.3 ± 4.2	2.0 - 10	6.7 ± 1.5	5 - 8
Shigella	4	2.8 ± 2.0	0.3 - 7	5.3 ± 1.0	4 - 6
Bactérias inv.	53	4.1 ± 2.8	0.0 - 15	6.9 ± 2.4	3 - 15
Rotav./bact. inv.	16	2.2 ± 2.1	0.5 - 9	7.6 ± 2.7	2 - 12
Rotav./EPEC	16	3.8 ± 2.1	1.0 - 15	7.3 ± 2.2	3 - 10
Rotav./ETEC	6	2.3 ± 1.2	1.0 - 4	6.5 ± 3.7	3 - 12
Parasitas	7	3.5 ± 3.1	0.5 - 10	7.7 ± 1.9	5 - 10
Sem agente	66	3.0 ± 3.0	0.5 - 15	6.7 ± 1.9	3 - 12
População	**272**	**3.1 ± 2.8**	**0.3 - 15**	**7.1 ± 2.3**	**2 - 15**

3.1.2. - Etiologia e número de dejecções no primeiro dia de internamento (Quadro 3.2)

Estatisticamente, foram significativas as diferenças entre:

- o grupo ***Rotavirus*** e os grupos ETEC ($p \leq 0.005$), *Shigella* ($p \leq 0.001$), *Yersinia* ($p \leq 0.025$ ou *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.025$).
- o grupo ***Yersinia*** e os grupos ETEC ($p \leq 0.01$) ou *Shigella* ($p \leq 0.01$).
- o grupo **ETEC** e o grupoparasitas ($p \leq 0.05$).

No grupo *Salmonella*, os serotipos não influenciaram o número de dejecções e de dias de diarreia antes do internamento; no grupo EPEC, apenas o número de dias de diarreia, antes do internamento, foi significativamente ($p \leq 0.05$) menor com o serogrupo O111.

3.2. - DURAÇÃO TOTAL DA DIARREIA

O tempo médio de diarreia, no internamento, 3.9±3.0 (1-23) dias, foi maior em crianças de menor idade ($p \leq 0.05$), malnutridas ($p \leq 0.0001$), de tipo social menos favorecido ($p \leq 0.025$) ou de origem rural ($p \leq 0.05$) e menor nas crianças de origem urbana ($p \leq 0.01$).

A duração total da diarreia, antes e durante o internamento, 7.1±4.3 (1.5-32) dias, foi menor nas crianças de mais idade ($p \leq 0.01$) ou de origem urbana ($p \leq 0.005$) e maior nas malnutridas ($p \leq 0.0001$), com más condições sociais ($p \leq 0.01$) ou de origem rural ($p \leq 0.025$).

3.2.1. - Etiologia e duração da diarreia (3.3)

Estatisticamente, o número médio de dias de diarreia, no internamento, foi significativamente menor no grupo ***Rotavirus*** que nos grupos EPEC ($p \leq 0.01$), EIEC ($p \leq 0.05$), *Salmonella* ($p \leq 0.01$), *Campylobacter* ($p \leq 0.05$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.01$), Sem agente ($p \leq 0.01$) ou nos outros doentes, em conjunto ($p \leq 0.05$).

O total de dias de diarreia, antes e durante o internamento, foi significativamente diferente quando comparámos:

- o grupo ***Rotavirus*** com os grupos ETEC ($p \leq 0.05$), *Salmonella* ($p \leq 0.005$), *Campylobacter* ($p \leq 0.005$), *Yersinia* ($p \leq 0.005$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.005$), Parasitas ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.025$) ou com os outros doentes ($p \leq 0.05$).
- o grupo ***Salmonella*** com o grupo EPEC ($p \leq 0.05$) ou com os outros doentes em conjunto ($p \leq 0.025$).
- o grupo **Bactérias invasivas** com o grupo *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.025$) ou com os outros doentes em conjunto ($p \leq 0.025$).
- o grupo ***Campylobacter*** com o grupo *Rotavirus*/bactérias invasivas.

3.3. - MODO DE INÍCIO DA DIARREIA

Apenas em 28 (10.3%) dos 272 doentes a diarreia não se estabeleceu de forma súbita, mas sim de forma progressiva (Quadro 3.4). A etiologia não influenciou, significativamente, o modo de início da diarreia.

Quadro 3.3 - Duração da diarreia (no internamento e total) e etiologia:

etiologia	total	internamento		total	
	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito	$\bar{x} \pm s$	âmbito
Rotavirus	56	3.2 ± 1.2	1 - 6	5.8 ± 1.8	3.0 - 10
EPEC	22	4.5 ± 3.5	1 - 15	6.8 ± 4.1	2.0 - 18
ETEC	6	3.3 ± 1.4	2 - 5	7.9 ± 4.1	3.0 - 15
EIEC	5	4.6 ± 3.7	2 - 11	6.9 ± 4.1	4.0 - 14
Salmonella	27	4.9 ± 4.3	2 - 23	9.2 ± 5.3	3.0 - 27
Campylobacter	3	4.7 ± 2.5	2 - 7	10.0 ± 4.6	6.0 - 15
Yersinia	4	2.3 ± 1.9	1 - 5	8.8 ± 6.4	2.0 - 16
Shigella	4	4.0 ± 2.2	2 - 7	6.8 ± 5.1	3.0 - 14
Bactérias inv.	53	4.6 ± 4.1	1 - 23	8.7 ± 5.4	1.5 - 27
Rota./EPEC	16	3.9 ± 1.8	2 - 9	7.7 ± 2.9	4.0 - 16
Rota./ETEC	6	3.7 ± 2.0	2 - 7	6,0 ± 2.8	4.0 - 10
Rota./bact.inv.	16	3.4 ± 1.9	1 - 9	5.7 ± 2.3	3.0 - 11
Parasitas	7	3.2 ± 1.9	1 - 6	6.2 ± 1.7	2.0 - 10
Sem agente	66	4.5 ± 3.7	1 - 17	7.5 ± 5.4	2.0 - 32
População	**272**	**3.9 ± 3.0**	**1 - 23**	**7.1 ± 4.3**	**1.5 - 32**

Quadro 3.4 - Etilogia da diarreia de início progressivo (número e percentagem do total):

etiologia	nº	%
Rotavirus	5	17.9
Rotavirus mais *EPEC*	1	3.6
Rotavirus mais *Salmonella*	1	3.6
Rotavirus mais *C.andida*	1	3.6
EPEC	2	7.1
EPEC mais *Shigella*	1	3.6
EPEC mais *C.ampylobacter*	1	3.6
EPEC mais *A.scaris*	1	3.6
ETEC LT^+	1	3.6
EIEC mais *A.scaris* e *Trichiuris*	1	3.6
Salmonella	3	10.7
Salmonella mais *Adenovirus*	1	3.6
Yersinia	1	3.6
Trichiuris	1	3.6
Sem agente	7	25.0
Total	**28**	**100.0**

3.4. - CONTACTOS (Quadro 3.5)

Somente para 13 (4.8%) das 272 crianças foi referido contacto com outros doentes com diarreia aguda, em 8 (61.5%) das quais identificámos *Rotavirus*.

Quadro 3.5 - Etiologia da diarreia nos doentes com contacto positivo (número e percentagem do total):

etiologia	nº	%
Rotavirus	4	30.8
Rotavirus mais EPEC e *Ascaris*	1	7.7
Rotavirus mais EPEC e *Salmonella*	1	7.7
Rotavirus mais ETEC	1	7.7
Rotavirus mais *Staphylococcus*	1	7.7
EPEC	1	7.7
Salmonella	2	15.4
Yersinia	1	7.7
Sem agente	1	7.7
Total	**13**	**100.0**

3.5. - RELAÇÃO ENTRE A ETIOLOGIA DA DIARREIA E A FREQUÊNCIA E CRONOLOGIA DE APARECIMENTO DA SINTOMATOLOGIA ASSOCIADA

3.5.1. - Vómitos (Quadro 3.6)

Presentes em 229 (84.2%) das 272 crianças, 142 (52.2%) do sexo masculino e 87 (32.0%) do feminino (idade média: 9.8±11.2 meses), sendo a primeira manifestação da doença em 33.1%, em 47.8% surgiram concomitantemente com a diarreia e, em 3.3%, após o seu início.

Quadro 3.6 - Vómitos - frequência e tempo de aparecimento no decurso da diarreia, nos vários grupos etiológicos:

etiologia		total		preced (1)		concom. (2)		após (3)	
	nº	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Rotavirus	56	56	100.0	27	48.2	26	46.4	3	5.4
Rotavirus c/s	41	41	100.0	18	43.9	20	47.8	3	7.3
Rotavirus s/s	9	9	100.0	6	66.7	3	33.3	0	0.0
EPEC	22	19	86.4	7	31.8	11	50.0	1	4.6
ETEC	6	5	83.3	0	0.0	4	66.7	1	16.7
EIEC	5	4	80.0	2	40.0	2	40.0	0	0.0
Salmonella	27	21	77.8	6	22.2	13	48.2	2	7.4
Yersinia	4	3	75.0	1	25.0	2	75.0	0	0.0
Campylobacter	3	1	33.3	0	0.0	1	33.3	0	0.0
Shigella	4	3	75.0	2	50.0	1	25.0	0	0.0
Bactérias inv.	53	39	75.6	13	24.5	24	45.3	2	3.8
Rotav./EPEC	16	16	100.0	6	37.5	10	62.5	0	0.0
Rotav./ETEC	6	6	100.0	2	33.3	4	66.7	0	0.0
Rotav./bact.inv.	16	14	87.5	6	37.5	8	50.0	0	0.0
Parasitas	7	5	71.4	2	28.6	3	42.8	0	0.0
Sem agente	66	51	77.3	16	24.2	33	50.0	2	3.0
População	**272**	**229**	**84.2**	**90**	**33.1**	**130**	**47.8**	**9**	**3.3**

(1) precedem; (2) concomitantes; (3) após o início da diarreia.

Todos os doentes do grupo ***Rotavirus*** tiveram vómitos, frequência que é significativamente maior que a observada nos grupos EPEC ($p \leq 0.05$), *Salmonella* ($p \leq 0.005$), *Campylobacter* ($p \leq 0.0001$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.0005$), Sem agente ($p \leq 0.001$) ou nos outros doentes em conjunto ($p \leq 0.001$). Entre os outros grupos não há diferenças significativas.

Os vómitos precederam, significativamente, mais vezes o início da diarreia no grupo ***Rotavirus*** que nos grupos *Salmonella* ($p \leq 0.05$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.005$) ou Sem agente ($p \leq 0.05$).

Nos grupos *Salmonella* e EPEC a frequência dos vómitos não foi influenciada pelos serotipos.

3.5.2. - Hipertermia (Quadro 3.7)

Em 201 (73.9%) dos 272 doentes, 123 (61.2%) do sexo masculino e 78 (39.8%) do sexo feminino (idade média: 10.5±12.8 meses), tiveram hipertermia que em 63 (23.2%) precedeu a diarreia, em 133 (48.9%) foi concomitante com o seu início e em 5 (1.8%) surgiu no seu decurso. A frequência de hipertermia foi maior nos doentes com mais idade ($p \leq 0.025$) e menor nos com défice nutricional mais grave ($p \leq 0.005$).

Hipertermia foi mais vezes observada em crianças do grupo ***Salmonella*** do que dos grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.05$), EPEC ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.05$) ou nos outros doentes, em conjunto ($p \leq 0.05$).

A etiologia não influenciou, de forma significativa, a cronologia de aparecimento de hipertermia, relativamente ao início da diarreia.

Nos grupos EPEC e *Salmonella*, os serotipos não influenciaram a frequência de hipertermia.

Quadro 3.7 - Hipertermia - frequência e tempo de aparecimento no decurso da diarreia, nos vários grupos etiológicos:

etiologia		total		preced (1)		concom.(2)		após (3)	
	nº	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Rotavirus	56	40	71.4	11	19.6	28	50.0	1	1.8
Rotavirus c/s	41	29	70.7	8	19.5	20	48.8	1	2.4
Rotavirus s/s	9	6	66.7	2	22.2	4	44.4	0	0.0
EPEC	22	14	63.6	4	18.2	9	40.9	1	4.5
ETEC	6	5	83.3	0	0.0	5	83.3	0	0.0
EIEC	5	3	60.0	1	20.0	2	40.0	0	0.0
Salmonella	27	23	85.2	5	18.5	17	63.0	1	3.7
Yersinia	4	4	100.0	2	50.0	2	50.0	0	0.0
Campylobacter	3	2	66.7	1	33.3	1	33.3	0	0.0
Shigella	4	3	75.0	1	25.0	2	50.0	0	0.0
Bactérias inv.	53	43	81.1	14	26.4	28	52.8	1	1.9
Rotav./bact.inv.	16	15	93.8	7	43.8	9	56.3	1	6.3
Rotav./EPEC	16	10	62.5	3	18.8	7	43.7	0	0.0
Rotav./ETEC	6	6	100.0	2	33.3	4	66.7	0	0.0
Parasitas	7	6	85.7	2	28.8	4	56.9	0	0.0
Sem agente	66	44	66.7	15	22.7	27	40.9	2	3.0
População	**272**	**201**	**73.9**	**63**	**23.2**	**133**	**48.9**	**5**	**1.8**

(1) precedem; (2) concomitantes; (3) após o início da diarreia.

3.5.3. - Sinais respiratórios (Quadro 3.8)

Tiveram sintomatologia respiratória 105 (38.6%) dos 272 doentes, 60 (57.1%) do sexo masculino e 45 (42.9%) do feminino (idade média: 8.9±9.7 meses) que em 83 (30.5%) precedeu a diarreia e em 22 (8.1%) surgiu concomitantemente. A sintomatologia respiratória foi mais frequente no tempo frio ($p \leq 0.05$).

Não foram significativas as diferenças observadas na frequência de patologia respiratoria, e no tempo do seu aparecimento relativamente ao início da diarreia, nas crianças dos diversos grupos etiológicos.

Nos doentes do grupo EPEC com sintomas respiratórios, predominou, significativamente ($p \leq 0.05$), o serogrupo O111.

Nos doentes do grupo *Salmonella* não encontrámos diferenças de frequência de sintomatologia respiratória associadas aos vários serotipos.

Quadro 3.8 - Sinais respiratórios - frequência e cronologia de aparecimento, nos vários grupos etiológicos:

etiologia		total		preced (1)		concom. (2)		após (3)	
	nº	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Rotavirus	56	20	35.7	16	28.6	4	7.1	0	0.0
Rotavirus c/s	41	15	36.6	12	29.3	3	7.3	0	0.0
Rotavirus s/s	9	4	44.4	4	44.4	0	0.0	0	0.0
EPEC	22	9	40.9	8	36.4	1	4.5	0	0.0
ETEC	6	2	33.3	0	0.0	2	33.3	0	0.0
EIEC	5	3	60.0	3	60.0	0	0.0	0	0.0
Salmonella	27	9	33.3	7	25.9	2	7.4	0	0.0
Yersinia	4	1	25.0	1	25.0	0	0.0	0	0.0
Campylobacter	3	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Shigella	4	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Bactérias inv.	53	17	32.1	14	26.4	3	5.7	0	0.0
Rotav./bact.inv.	16	7	43.8	7	43.8	0	0.0	0	0.0
Rotav./EPEC	16	7	43.8	6	37.5	1	6.3	0	0.0
Rotav./ETEC	6	4	66.7	2	33.3	2	33.3	0	0.0
Parasitas	7	3	57.1	0	0.0	3	57.1	0	0.0
Sem agente	66	22	33.3	15	22.7	7	10.6	0	0.0
População	**272**	**105**	**38.6**	**83**	**30.5**	**22**	**8.1**	**0**	**0.0**

(1) precedem; (2) concomitantes; (3) após o início da diarreia.

3.5.4. - Otite (Quadro 3.9)

Vinte e quatro (8.8%) das 272 crianças, 12 do sexo masculino e 12 do sexo feminino (idade média: 8.2±10.6 meses), foi diagnosticada otite média aguda: em 5 (1.8%) antes da diarreia e em 19 (7.0%) no seu decurso (no internamento).

Em 15 (62.5%) identificámos *Rotavirus*, frequência superior à dos outros agentes ($p \leq 0.05$). Em 3 doentes não identificámos qualquer agente enteropatogénico.

Quadro 3.9 - Otite - frequência e cronologia de aparecimento:

etiologia		total		preced [1]		concom.[2]		após [3]	
	nº	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Rotavirus	56	12	21.4	0	0.0	11	19.5	1	1.9
Rotavirus mais EPEC	16	1	6.3	0	0.0	1	6.3	0	0.0
Rotavirus mais ETEC LT+	6	1	16.7	0	0.0	1	16.7	0	0.0
Rotavirus mais *Salmonella*	9	1	11.1	0	0.0	1	11.1	0	0.0
Yersinia	4	2	50.0	1	25.0	1	25.0	0	0.0
Salmonella	27	1	3.7	0	0.0	1	3.7	0	0.0
EPEC	22	1	4.5	1	4.5	0	0.0	0	0.0
ETEC	6	1	16.6	1	16.6	0	0.0	0	0.0
Yersinia mais EPEC	1	1	100.0	1	100.0	0	0.0	0	0.0
Sem agente	66	3	4.5	1	1.5	2	3.0	0	0.0
População	**272**	**24**	**8.8**	**5**	**1.8**	**18**	**6.6**	**1**	**0.4**

(1) precedem; (2) concomitantes; (3) após o início da diarreia.

3.5.5. - Convulsões (Quadro 3.10)

Em 21 (7.7%) das 272 crianças, 11 (52.4%) rapazes e 10 (47.6%) raparigas (idade média: 8.1±6.5 meses), tiveram convulsões: 3 (1.1%), imediatamente antes 5 (1.8%) concomitantemente com o início e 13 (4.8%) no decurso da diarreia (no internamento). Das 21 crianças com convulsões, 5 (23.8%) tinham hipernatremia, percentagem superior, embora não significativamente ($p \leq 0.5$), à observada no conjunto dos doentes, e 20 (95.2%) tinham hipertermia ($p \leq 0.05$).

Três (42.9%), dos 7 doentes com ***Shigella***, tiveram convulsões imediatamente antes do início da diarreia, frequência significativamente maior que nos grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.001$), EPEC ($p \leq 0.05$), *Salmonella* ($p \leq 0.05$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.0005$) ou nos outros doentes, em conjunto ($p \leq 0.0005$).

Quadro 3.10 - Convulsões e etiologia da diarreia:

etiologia		total		preced [1]		concom.[2]		após [3]	
	nº	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Rotavirus	56	3	5.3	0	0.0	0	0.0	3	5.3
Rotavirus mais EPEC	16	1	6.3	0	0.0	1	6.3	0	0.0
Rotavirus mais ETEC LT+	6	1	16.7	0	0.0	0	0.0	1	16.7
Rotavirus mais *Yersinia*	1	1	100.0	0	0.0	1	100.0	0	0.0
Rotavirus mais *Salmonella*	9	1	11.1	0	0.0	1	11.1	0	0.0
EPEC	22	2	9.1	0	0.0	1	4.5	1	4.5
Salmonella	27	4	14.8	0	0.0	0	0.0	4	14.8
Shigella	4	3	75.0	3	75.0	0	0.0	0	0.0
Staphylococcus	1	1	100.0	0	0.0	0	0.0	1	100.0
Ascaris	4	1	25.0	0	0.0	0	0.0	1	25.0
Sem agente	66	3	4.5	0	0.0	1	1.5	2	3.0
População	**272**	**21**	**7.7**	**3**	**1.1**	**5**	**1.8**	**13**	**4.8**

(1) precedem; (2) concomitantes; (3) após o início da diarreia.

3.5.6. - Dores abdominais (Quadro 3.11)

Em 38 (14%) das 272 crianças, 21 (55.3%) do sexo masculino e 17 44.7%) do sexo feminino (idade média: 24.6±20.5 meses), foi possível identificar dores abdominais: em 14 (5.1%), precedendo a diarreia, e em 23 (8.5%), concomitantemente com o seu ínicio. A presença de dores abdominais, de avaliação dificultada pela idade dos doentes, foi mais frequente nas crianças com mais idade ($p \leq 0.01$) ou com hipertermia ($p \leq 0.025$) ou com sangue nas fezes ($p \leq 0.05$).

A etiologia da diarreia não influenciou, significativamente, a frequência de dores abdominais; no entanto, em 8 doentes com dores abdominais e *Salmonella* predominou ($p \leq 0.05$) o serotipo *enteritidis*.

Quadro 3.11 - Dores abdominais - frequência e etiologia da diarreia:

etiologia		total		preced (1)		concom.(2)		após (3)	
	nº	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Rotavirus	56	6	10.7	1	1.8	5	8.9	0	0.0
Rotav. mais EPEC, *Yers.inia* e *Giardia*	1	1	100.0	0	0.0	1	100.0	0	0.0
Rotavirus mais *Salmonella*	9	2	22.2	0	0.0	1	11.1	1	11.1
Rotavirus mais *Ascaris*	3	1	33.3	1	33.3	0	0.0	0	0.0
Rotavirus mais *Campylobacter*	1	1	100.0	0	0.0	1	100.0	0	0.0
EPEC	22	3	13.6	2	9.1	1	4.5	0	0.0
EPEC mais *Yersinia*	1	1	100.0	0	0.0	1	100.0	0	0.0
EPEC mais *Shigella*	3	1	33.3	0	0.0	1	33.3	0	0.0
EPEC mais Salmonella	2	1	50.0	1	50.0	0	0.0	0	0.0
EPEC mais *Ascaris*	2	1	50.0	0	0.0	1	50.0	0	0.0
EPEC mais *Ascaris* e *Trichiuris*	1	1	100.0	1	100.0	0	0.0	0	0.0
EIEC	5	1	20.0	1	20.0	0	0.0	0	0.0
EIEC mais *Trichiuris*	1	1	100.0	0	0.0	1	100.0	0	0.0
Salmonella	27	5	18.5	1	3.7	4	14.8	0	0.0
Shigella	4	1	25.0	1	25.0	0	0.0	0	0.0
Campylobacter mais *Ascaris*	1	1	100.0	1	100.0	0	0.0	0	0.0
Ascaris	4	2	50.0	1	25.0	1	25.0	0	0.0
Sem agente	66	8	12.1	3	4.5	5	7.6	0	0.0
População	**272**	**38**	**14.0**	**14**	**5.1**	**23**	**8.5**	**1**	**0.4**

(1) precedem; (2) concomitantes; (3) após o início da diarreia.

3.5.7. - Cefaleias (Quadro 3.12)

Identificadas apenas em 12 (4.4%) das 272 crianças, 6 rapazes e 6 raparigas (idade média: 45.6±16.0 meses), simultaneamente com o ínicio da diarreia em 5 (1.8%) e, precedendo-o, em 7 (2.7%). A idade dos doentes limitou a possibilidade do diagnóstico de cefaleias. Daí que a sua frequência tivesse correlação positiva com a idade das crianças ($p \leq 0.0001$).

A sua frequência não foi influenciada, significativamente, pela etiologia da diarreia. No entanto, nos 7 doentes com EPEC e cefaleias predominou ($p \leq 0.05$) o serogrupo O86.

Quadro 3.12 - Cefaleias - frequência e etiologia da diarreia:

etiologia		total		preced [1]		concom.[2]		após [3]	
	nº	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Rotavirus	56	1	1.8	0	0.0	1	1.8	0	0.0
Rotavirus mais *Ascaris*	3	1	33.3	1	33.3	0	0.0	0	0.0
Rotavirus mais EPEC e *Salmonella*	1	1	100.0	0	0.0	1	100.0	0	0.0
EPEC mais *Ascaris*	2	1	50.0	0	0.0	1	50.0	0	0.0
EPEC mais *Shigella*	3	1	33.3	0	0.0	1	33.3	0	0.0
EPEC mais *Ascaris* e *Trichiuris*	1	1	100.0	1	100.0	0	0.0	0	0.0
EIEC	5	1	20.0	1	20.0	0	0.0	0	0.0
Campylobacter mais *Ascaris*	1	1	100.0	1	100.0	0	0.0	0	0.0
Ascaris	4	2	50.0	1	25.0	1	25.0	0	0.0
Sem agente	66	1	1.5	0	0.0	1	1.5	0	0.0
População	**272**	**11**	**4.0**	**5**	**1.8**	**6**	**2.2**	**0**	**0.0**

(1) precedem; (2) concomitantes; (3) após o início da diarreia.

3.6. - PERDA DE PESO (%) (Quadro 3.13)

A perda percentual de peso (média: 6.1±2.7) foi maior em crianças com menos idade ($p \leq 0.0001$) ou malnutridas ($p \leq 0.005$), com maior número de dejecções ($p \leq 0.01$), vómitos ($p \leq 0.025$) ou hipertermia ($p \leq 0.05$).

O tipo social não influenciou a sua gravidade que foi, significativamente, maior em crianças de origem rural ($p \leq 0.025$) e menor nas de origem urbana ($p \leq 0.01$).

Quadro 3.13 - Perda de peso (%)*

perda de peso (%)	nº	%	$\bar{x} \pm s$	âmbito
< 5	107	39.4	3.5 ± 0.9	1.2 - 4.9
5-10	144	52.9	7.0 ± 1.4	5.0 - 9.8
> 10	21	7.7	12.2 ± 1.7	10.0 - 16.2
População	**272**	**100.0**	**6.1 ± 2.7**	**1.2 - 16.2**

* (peso após hidratação - peso na admissão)/peso após hidratação X 100.

3.6.1. - Perda de peso e etiologia da diarreia (Quadro 3.14)

A perda de peso foi significativamente maior no grupo ***Rotavirus*/ETEC** que nos grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.025$), ETEC ($p \leq 005$) ou Parasitas ($p \leq 0.025$). As diferenças entre os outros grupos não foram significativas. No grupo *Salmonella*, foi maior nos doentes com o serotipo *wien* ($p \leq 0.05$); no grupo EPEC, foi menor com o serogrupo O86 ($p \leq 0.05$).

Quadro 3.14 - Perda de peso (%)* e etiologia da diarreia:

etiologia		perda de peso		< 5% (1)		5-10% (2)		> 10% (3)	
	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº	%	nº	%	nº	%
Rotavirus	56	6.1 ± 2.5	2.7 - 13.4	21	37.5	33	58.9	2	3.6
Rotavirus c/s	41	5.6 ± 2.5	2.6 - 10.7	19	46.3	21	51.2	1	2.4
Rotavirus s/s	9	7.8 ± 2.9	3.7 - 13.4	2	22.2	6	66.7	1	11.1
EPEC	22	5.5 ± 2.8	2.7 - 13.4	10	45.5	10	45.5	2	9.0
ETEC	6	5.8 ± 1.8	4.0 - 8.5	4	66.7	2	33.3	0	0.0
EIEC	5	5.4 ± 1.7	4.0 - 7.9	3	60.0	2	40.0	0	0.0
Salmonella	27	5.8 ± 3.1	1.9 - 16.2	13	48.2	12	44.4	2	7.4
Yersinia	4	6.8 ± 2.7	3.2 - 9.5	1	25.0	3	75.0	0	0.0
Campylobacter	3	6.3 ± 3.2	2.8 - 9.1	1	33.3	2	66.7	0	0.0
Shigella	4	6.5 ± 4.9	3.0 - 13.5	2	50.0	1	25.0	1	25.0
Bactérias inv.	53	6.2 ± 3.1	1.9 - 16.2	23	43.4	24	45.3	6	11.3
Rotav./bact.inv.	16	5.4 ± 2.0	2.0 - 9.5	8	50.0	8	50.0	0	0.0
Rotav./EPEC	16	5.4 ± 3.5	2.0 - 16.0	5	31.3	9	56.3	2	12.3
Rotav./ETEC	6	8.3 ± 0.8	6.0 - 7.9	0	0.0	6	100.0	0	0.0
Parasitas	7	4.8 ± 2.0	1.2 - 11.7	4	57.1	3	42.9	0	0.0
Sem agente	66	6.4 ± 2.9	1.2 - 12.7	20	30.3	39	59.1	7	10.6
População	**272**	**6.0 ± 2.7**	**1.2 - 16.2**	**107**	**39.3**	**144**	**52.9**	**21**	**7.7**

* (peso após hidratação - peso no momento de internamento)/peso após hidratação X 100. (1) nº e percentagem de doentes com perda de peso < 5%; (2) nº e percentagem de doentes com perda de peso entre 5 e 10%; (3) nº e percentagem de doentes com perda de peso maior que 10%.

3.7. - EVOLUÇÃO DA SINTOMATOLOGIA NO INTERNAMENTO

(Quadro 3.15)

O tempo de duração da **desidratação** foi ≥ 24 horas em 263 (96.7%) doentes. Prolongou-se nos doentes malnutridos ($p \leq 0.005$), de menor idade ($p \leq 0.05$), com maior perda de peso ($p \leq 0.0001$) e nos que mantiveram, durante mais tempo, vómitos ($p \leq 0.0001$), hipertermia ($p \leq 0.005$), fezes líquidas ($p \leq 0.0001$) ou pastosas ($p \leq 0.0001$) e com sangue ($p \leq 0.05$) ou muco ($p \leq 0.005$).

Os **vómitos**, que em 149 (58.8%) dos doentes duraram ≥ 24 horas, persistiram mais tempo em crianças malnutridas ($p \leq 0.025$), com maior perda de peso ($p \leq 0.005$) e com diarreia mais prolongada ($p \leq 0.0001$).

A frequência e duração de **hipertermia**, que em 178 (65.4%) dos doentes foi ≥ 24 horas, não foi afectada pela idade ou situação nutricional dos doentes.

Quadro 3.15 - Sinais e sintomas - duração média e número de doentes com duração ≥ a 24 horas:

	dias		≥ 24 horas	
	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº	%
Desidratação	1.49 ± 1.20	1 - 13	263	96.7
Vómitos	0.78 ± 0.98	1 - 6	149	58.8
Hipertermia	1.04 ± 0.99	1 - 6	178	65.4

3.7.1. - Etiologia da diarreia e evolução da sintomatologia (Quadro 3.16)

3.7.1.1. - Vómitos (Quadro 3.16)

Só foram significativas as diferenças observadas, na duração dos vómitos, entre os grupos:

- ***Rotavirus*** e os grupos *Yersinia* ($p \leq 0.005$) e ETEC ($p \leq 0.025$).
- ***Campylobacter*** e o grupo *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.025$).

Quadro 3.16 - Etiologia e evolução da sintomatologia (nº de dias):

etiologia	total	vómitos		hipertermia		desidratação	
	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito	$\bar{x} \pm s$	âmbito	$\bar{x} \pm s$	âmbito
Rotavirus	56	0.8 ± 0.6	0-3	0.8 ± 0.7	0-2	1.3 ± 0.8	0-5
Rotavirus c/s	41	0.9 ± 0.7	0-3	0.9 ± 0.7	0-2	1.4 ± 0.8	0-5
Rotavirus s/s	9	0.7 ± 0.5	0-1	0.7 ± 0.7	0-2	1.0 ± 0.5	0-2
EPEC	22	0.6 ± 1.0	0-4	1.1 ± 1.3	0-5	1.3 ± 0.7	0-3
ETEC	6	1.3 ± 1.3	0-3	0.9 ± 1.1	0-3	1.3 ± 0.5	1-2
EIEC	5	0.8 ± 1.3	0-3	0.6 ± 0.9	0-2	2.0 ± 1.2	1-4
Salmonella	27	0.8 ± 1.3	0-6	1.5 ± 0.9	0-3	1.9 ± 1.3	1-6
Campylobacter	3		0-0	1.3 ± 1.5	0-3	1.7 ± 1.2	1-3
Yersinia	4	0.5 ± 0.6	0-1	0.8 ± 0.5	0-1	1.3 ± 0.5	1-2
Shigella	4	0.8 ± 1.0	0-2	1.5 ± 1.0	0-2	1.5 ± 1.0	1-3
Bactérias invas.	53	0.7 ± 1.2	0-6	1.3 ± 0.9	0-3	1.8 ± 1.3	1-7
Rotav./bact.invas.	16	0.8 ± 0.9	0-3	1.6 ± 1.0	0-3	1.2 ± 0.5	0-2
Rotav./EPEC	16	0.9 ± 0.6	0-2	0.8 ± 0.8	0-2	1.6 ± 1.2	0-5
Rotav./ETEC	6	1.0 ± 0.9	0-2	1.8 ± 1.2	0-3	2.2 ± 0.8	1-3
Parasitas	7	0.5 ± 0.8	0-2	0.7 ± 0.8	0-2	1.2 ± 0.4	1-2
Sem agente	66	0.8 ± 1.2	0-6	1.0 ± 1.2	0-5	1.6 ± 1.8	0-13
População	**272**	$\mathbf{0.8 \pm 1.0}$	**0-6**	$\mathbf{1.0 \pm 1.0}$	**0-6**	$\mathbf{1.5 \pm 1.2}$	**0-13**

3.7.1.2. - Hipertermia (Quadro 3.16)

As crianças do grupo ***Rotavirus*** tiveram hipertermia, significativamente, durante **menos** tempo que as dos grupo *Salmonella* ($p \leq 0.005$), *Shigella* ($p \leq 0.0001$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.01$), *Rotavírus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.005$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.025$) ou *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.005$).

Hipertermia foi **mais** duradoura:

- no grupo ***Salmonella*** que nos grupos *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.025$), Sem agente ($p \leq 0.05$) ou nos outros doentes em conjunto ($p \leq 0.025$).
- no grupo ***Rotavirus*/ETEC** que no grupo *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.025$) ou no conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.05$).
- no grupo ***Rotavirus*/bactérias invasivas** que no grupo *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.025$).

3.7.1.3. - Desidratação (Quadro 3.16)

As diferenças observadas na duração da desidratação foram, estatisticamente, diferentes quando comparámos:

- o grupo ***Rotavirus*** com os grupos *Salmonella* ($p \leq 0.05$), *Campylobacter* ($p \leq 0.025$) ou *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.025$).
- o grupo ***Rotavirus*/ETEC** com os grupos **EPEC** ($p \leq 0.05$) ou Parasitas ($p \leq 0.005$).
- o grupo **ETEC** com os grupos *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.05$) ou *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.05$).
- o grupo **Bactérias invasivas** com o conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.05$).
- o grupo ***Rotavirus*/bactérias invasivas** com os grupos EIEC ($p \leq 0.05$) ou *Rotavirus*/ ETEC ($p \leq 0.005$).

3.8. - FEZES

3.8.1. - Aspecto macroscópico (Quadro 3.17)

Em 240 (88.2%) dos 272 doentes as fezes eram aquosas, em 23 (8.5%) eram pastosas e em 9 (3.3%) eram grumosas. Predominava a cor amarela (48.2%) e verde (25.7%); 19 (79.2%) das fezes castanhas tinham, macroscopicamente, sangue.

Do total dos doentes, 107 (39.3%) tinham fezes com muco e 39 (14.3%) tinham fezes com sangue.

Não encontrámos correlação significativa entre o número de dejecções, ou a duração da diarreia antes do internamento, e as características macroscópicas das fezes.

Quadro 3.17 - Aspecto macroscópico das fezes:

	nº	%
Aquosas	240	88.2
Pastosas	23	8.5
Grumosas	9	3.3
Amarelas	131	48.2
Verdes	70	25.7
Amarelas/verdes	41	15.1
Brancas	6	2.2
Castanhas	24	8.8
Muco	107	39.3
Sangue	39	14.3

3.8.1.1. - Aspecto macroscópico e etiologia da diarreia (Quadro 3.18)

3.8.1.1.1. - Consistência

A etiologia não influenciou, significativamente, a consistência das fezes.

3.8.1.1.2. - Coloração

A frequência de coloração amarela, verde ou amarela/verde, não foi influenciada pela etiologia da diarreia. No entanto, dos 6 doentes com fezes brancas, 5 tinham ***Rotavirus***.

A coloração castanha, associada à presença de sangue nas fezes ($p \leq 0.001$), foi significativamente mais vezes observada:

Quadro 3.18 - Aspecto macroscópico das fezes e etiologia da diarreia:

etiologia	total nº	consistência: aquosa nº %	grumosa nº %	pastosa nº %	coloração: amarela nº %	verde nº %	amarela / verde nº %	branca nº %	castanha nº %	muco nº %	sangue nº %
Rotavirus	56	51 91.1	3 5.4	2 3.5	28 50.0	13 23.2	11 19.6	1 1.8	3 5.4	18 32.1	4 7.1
EPEC	22	20 90.9	0 0.0	2 9.1	10 45.4	8 36.4	4 18.2	0 0.0	0 0.0	6 27.3	1 4.5
ETEC	6	61 00.0	0 0.0	0 0.0	5 83.3	1 16.7	0 0.0	0 0.0	0 0.0	1 16.7	0 0.0
EIEC	5	4 80.0	0 0.0	1 20.0	1 20.0	1 20.0	1 20.0	0 0.0	2 40.0	2 40.0	2 40.0
Salmonella	27	24 88.9	1 3.7	2 7.4	13 48.1	4 14.9	4 14.9	0 0.0	6 22.2	22 81.5	10 37.0
Yersinia	4	3 75.0	0 0.0	1 25.0	0 0.0	3 75.0	0 0.0	0 0.0	1 25.0	4 100.0	3 75.0
Campylobacter	3	2 66.7	0 0.0	1 33.3	1 33.3	0 0.0	1 33.3	0 0.0	1 33.3	2 66.7	31 00.0
Shigella	4	3 75.0	0 0.0	1 25.0	1 25.0	0 0.0	1 25.0	0 0.0	2 50.0	3 75.0	3 75.0
Bactérias inv.	53	45 84.9	1 1.9	7 13.2	22 41.5	10 18.9	7 13.2	0 0.0	14 26.4	39 73.6	27 50.9
Rota./bact.inv.	16	14 87.5	0 0.0	2 12.5	6 37.5	5 31.3	2 12.5	2 12.5	1 6.3	8 50.0	2 12.5
Rota./EPEC	16	14 87.5	1 6.3	1 6.3	8 50.0	3 18.8	4 25.0	1 16.7	0 0.0	4 25.0	0 0.0
Rota./ETEC	6	5 83.3	0 0.0	1 16.7	2 33.3	2 33.3	1 16.7	1 16.7	0 0.0	2 33.3	0 0.0
Parasitas	7	6 85.7	0 0.0	1 14.3	5 71.4	1 14.3	0 0.0	0 0.0	1 14.3	1 14.3	0 0.0
Sem agente	66	58 87.4	4 6.1	4 6.1	31 47.0	22 33.3	11 16.7	0 0.0	2 3.0	21 31.8	3 4.5
População	**272**	**238 87.5**	**9 3.3**	**25 9.2**	**131 48.2**	**70 25.7**	**41 15.1**	**6 2.2**	**24 8.8**	**107 39.3**	**39 14.3**

- no grupo **EIEC** que nos grupos EPEC ($p \leq 0.05$) ou Sem Agente ($p \leq 0.05$).
- no grupo ***Salmonella*** que nos grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.05$), EPEC ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.1$) ou nos outros doentes em conjunto ($p \leq 0.05$).
- no grupo **Bactérias invasivas** que nos grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.01$), EPEC ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.001$) ou no resto dos doentes ($p \leq 0.0001$).

3.8.1.1.3. - Muco

Continham muco, mais vezes, fezes de diarreia por bactérias invasivas; estatisticamente, foram significativas as diferenças observadas entre:

- o grupo ***Salmonella*** e os grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.001$), EPEC ($p \leq 0.001$), ETEC ($p \leq 0.01$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.005$), *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.05$), Parasitas ($p \leq 0.01$),Sem agente ($p \leq 0.0005$) e o resto dos doentes ($p \leq 0.0001$).
- o grupo ***Yersinia*** e os grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.05$), EPEC ($p \leq 0.05$), ETEC ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.05$), Parasitas ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.01$) e o conjunto dos outros doentes.
- o grupo **Bactérias invasivas** e os grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.01$), EPEC ($p \leq 0.001$), ETEC ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.005$), Parasitas ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.0001$) e os outros doentes ($p \leq 0.0001$).
- o grupo ***Shigella*** e os grupos ETEC ($p \leq 0.01$) e Parasitas ($p \leq 0.05$).

3.8.1.1.4. - Sangue

Continham sangue, mais vezes, as fezes na diarreia por bactérias invasivas. Estatisticamente, foram significativas as diferenças entre:

- o grupo **EIEC** e o grupo Sem agente ($p \leq 0.005$) ou o conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.05$).
- o grupo ***Salmonella*** e os grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.05$), EPEC ($p \leq 0.05$), ETEC ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/bactérias ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.01$), Parasitas ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.005$) e os outros doentes, em conjunto ($p \leq 0.005$).
- o grupo ***Campylobacter*** e os grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.005$), EPEC ($p \leq 0.005$), ETEC ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/bactérias ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.001$), *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.005$), Parasitas ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.0001$ e os outros doentes ($p \leq 0.001$).
- o grupo ***Yersinia*** e os grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.005$), EPEC ($p \leq 0.005$), *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.005$), *Rotavirus*/EPEC ($P \leq 0.005$), Sem agente ($p \leq 0.0005$) e o resto dos doentes ($p \leq 0.01$).
- o grupo ***Shigella*** e os grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.005$), EPEC ($p \leq 0.005$), *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.005$), Sem agente ($p \leq 0.005$) ou os outros doentes ($p \leq 0.001$).
- o grupo **Bactérias invasivas** e os grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.0001$), EPEC ($p \leq 0.001$), ETEC ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/bactérias ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.005$), *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.05$), Parasitas ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.0001$) e o conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.0001$).
- o grupo **Sem agente** e os outros doentes ($p \leq 0.05$).

Nos doentes dos grupos EPEC e *Salmonella* não encontrámos diferenças significativas do aspecto macroscópico das fezes associadas aos vários serotipos.

3.8.1.2. - Evolução do aspecto macroscópico das fezes (Quadro 3.19)

Duzentos e sessenta e dois (96.3%) dos 272 doentes tiveram fezes líquidas, 77 (28.3%) com muco e 14 (5.2%) com sangue, por períodos ≥ 24 horas.

A persistência de fezes líquidas ou pastosas foi maior em crianças malnutridas ($p \leq 0.0001$) e de menor idade ($p \leq 0.05$) e correlacionava-se, positivamente, com os valores da perda de peso ($p \leq 0.0001$), número de dejecções ($p \leq 0.05$), presença de sangue ($p \leq 0.05$) ou muco ($p \leq 0.005$) nas fezes e com a manutenção de hipertermia ($p \leq 0.0005$) ou vómitos ($p \leq 0.0001$).

As fezes de maior osmolalidade ($p \leq 0.005$), em crianças com maior perda de peso ($p \leq 0.005$) e diarreia mais prolongada ($p \leq 0.0005$), tiveram muco durante mais dias.

A persistência de observação de sangue ou de muco correlacionavam-se, positivamente, entre si ($p \leq 0.0001$).

Quadro 3.19 - Características das fezes - número médio de dias e duração ≥ a 24 horas:

característica	dias		≥ 24 horas	
	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº	%
Líquidas	2.08 ± 1.80	0 - 15	262	96.3
Pastosas	1.86 ± 1.73	0 - 10	239	87.9
Muco	0.48 ± 1.00	0 - 6	77	28.3
Sangue	0.03 ± 0.35	0 - 3	14	5.2

3.8.1.2.1. - Etiologia e evolução do aspecto macroscópico das fezes (Quadro 3.20)

Fezes líquidas - Mantiveram-se **menos tempo** líquidas, de forma significativa, no grupo ***Rotavírus*** que nos grupos *Salmonella* ($p \leq 0.05$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.025$) ou Sem agente ($p \leq 0.025$) e, **mais tempo**, no grupo **Bactérias invasivas** que nos outros doentes, em conjunto ($p \leq 0.05$).

Quadro 3.20 - Características das fezes: duração e etiologia da diarreia:

		liquídas		pastosas		muco		sangue	
	nº	x±s	âmbito	x±s	âmbito	x±s	âmbito	x±s	âmbito
Rotavirus	56	1.7±0.9	0-4	1.5±0.6	0-3	0.2±0.5	0-2	0.0	
Rotavirus c/s	41	1.7±1.0	0-4	1.3±0.6	0-3	0.2±0.5	0-2	0.0	
Rotavirus c/s	9	1.7±1.1	0-4	1.6±0.9	0-3	0.1±0.3	0-1	0.0	
EPEC	22	2.1±1.7	0-8	2.4±2.3	0-10	0.4±1.1	0-5	0.1±0.2	0-1
ETEC	6	1.6±0.8	1-3	1.7±0.8	1-3	0.0±0.0	0-0	0.0	
EIEC	5	2.4±1.5	1-5	2.2±2.2	1-6	0.2±0.5	0-1	0.0	
Salmonella	27	2.6±2.8	1-15	2.3±2.0	0-8	1.1±1.4	0-5	0.1±0.3	0-1
Campylobacter	3	2.0±1.0	1-3	2.7±1.5	1-4	1.7±1.5	0-3	0.7±0.6	0-1
Yersinia	4	1.5±1.0	1-3	0.8±1.8	0-2	0.5±0.6	0-1	0.3±0.5	0-1
Shigella	4	1.8±1.0	1-3	2.3±1.9	1-5	2.0±2.7	0-6	0.8±0.5	0-1
Bactériasinvas.	53	2.6±2.6	1-15	2.0±2.1	0-10	1.0±1.4	0-6	0.2±0.4	0-1
Rota./bact.invas.	16	1.9±1.1	0-4	1.5±1.2	0-5	0.3±0.6	0-2	0.0	
Rotav./EPEC	16	1.9±1.4	0-6	2.0±1.0	0-4	0.2±0.4	0-1	0.0	
Rotav./ETEC	6	2.2±1.2	1-4	1.5±1.4	0-4	0.5±0.8	0-2	0.0	
Parasitas	7	1.8±1.3	0-4	1.3±0.8	0-2	0.3±0.5	0-1	0.0	
Sem agente	65	2.4±2.2	0-13	2.2±2.2	0-10	0.6±1.1	0-6	0.2±0.6	0-3
População	**272**	**2.1±1.0**	**0-15**	**1.9±1.7**	**0-10**	**0.5±1.0**	**0-6**	**0.1±0.4**	**0-3**

Fezes pastosas - Foi significativamente diferente o número de dias em que as fezes se mantiveram pastosas entre:

- o grupo ***Rotavirus*** e os grupos *Salmonella* ($p \leq 0.01$), *Yersinia* ($p \leq 0.0001$), *Shigella* ($p \leq 0.005$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.025$) ou Sem agente ($p \leq 0.025$).
- o grupo ***Yersinia*** e o grupo *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.05$).
- o grupo **Parasitas** e os grupos *Campylobacter* ($p \leq 0.025$) ou *Shigella* ($p \leq 0.05$).

Fezes com muco - As fezes contiveram muco, significativamente, durante **menos** dias:

- no grupo ***Rotavirus*** do que nos grupos ETEC ($p \leq 0.005$), *Salmonella* ($p \leq 0.05$), *Campylobacter* ($p \leq 0.005$), *Yersinia* ($p \leq 0.005$) *Shigella* ($p \leq 0.0001$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.005$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.025$) ou Sem agente ($p \leq 0.25$).

Durante **mais** dias:

- no grupo ***Salmonella*** do que nos grupos ETEC ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.025$), *Rotavirus*/ETEC($p \leq 0.005$) ou no resto da população ($p \leq 0.0.005$).
- no grupo ***Shigella*** do que nos grupos *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.025$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.025$) ou no conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.5$).
- no grupo ***Campylobacter*** do que nos grupos *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.025$), *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.025$), Parasitas ($p \leq 0.025$), Sem agente ($p \leq 0.05$) ou nos outros doentes ($p \leq 0.05$).
- no grupo ***Yersinia*** do que nos grupos ETEC ($p \leq 0.05$) ou *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.05$).
- no grupo **Bactérias invasivas** do que nos grupos ETEC ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.05$) ou nos outros doentes, em conjunto ($p \leq 0.005$).

Fezes com sangue - Não foi observado, durante o internamento, sangue nas fezes de diarreia por *Rotavirus*, isolado ou associado a outro agente, ETEC ou EIEC.

A sua presença foi mais frequente, e persistiu durante **mais** tempo:

- no grupo ***Shigella*** que nos grupos *Rotavirus* ($p < 0.0001$), EPEC ($p \leq 0.001$), ETEC ($p \leq 0.005$), EIEC ($p \leq 0.025$), *Salmonella* ($p \leq 0.005$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.005$), *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.0001$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.0001$), *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.01$), Parasitas ($p \leq 0.005$), Sem agente ($p \leq 0.05$), ou no conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.005$).
- no grupo ***Campylobacter*** que nos grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.0001$), EPEC ($p \leq 0.005$), EIEC ($p \leq 0.05$), *Salmonella* ($p \leq 0.025$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.005$), *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.0001$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.0001$), *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.025$), Parasitas ($p \leq 0.005$) ou no resto dos doentes ($p \leq 0.005$).
- no grupo ***Yersinia*** que nos grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.0001$), *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.05$) ou *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.05$).
- no grupo ***Salmonella*** que no grupo *Rotavirus* ($p \leq 0.025$).
- no grupo **Bactérias invasivas** que nos grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.005$), *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.05$), Parasitas ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.05$) ou no conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.025$).
- no grupo **EPEC** que no grupo *Rotavirus* ($p \leq 0.005$).
- no grupo **Sem agente** que no grupo *Rotavirus* ($p \leq 0.01$).

3.8.2. - Exame microscópico

O exame microscópico, das 272 amostras de fezes, revelou leucócitos em 118 (43.4%) e eritrócitos em 41 (15.1%).

A frequência da presença de leucócitos foi maior em crianças de menor idade ($p \leq 0.05$) e em fezes com pH ≥ 6 ($p \leq 0.005$), sem substâncias redutoras ($p \leq 0.01$), com muco ($p \leq 0.005$) ou sangue ($p \leq 0.005$). Tiveram mais vezes leucócitos nas fezes crianças com hipertermia ($p \leq 0.05$), com dores abdominais ($p \leq 0.01$) ou com valores sanguíneos elevados de leucócitos ($p \leq 0.01$), neutrófilos ($p \leq 0.005$), proteína C reactiva ($p \leq 0.005$) e antitripsina alfa-1 ($p \leq 0.05$). Não encontrámos correlação significativa entre a positividade da pesquisa de leucócitos nas fezes e a osmolalidade ou concentração dos electrólitos fecais.

Microscopicamente, confirmámos a presença de eritrócitos em 5 amostras de fezes sem sangue ao exame directo. A frequência da observação de eritrócitos não foi influenciada pela idade dos doentes nem se correlacionava, significativamente, com as determinações de pH, substâncias redutoras, osmolalidade e concentração de electrólitos fecais. No entanto, teve correlação positiva com a presença de dores abdominais ($p \leq 0.025$), com o teor sanguíneo de proteína C reactiva ($p \leq 0.025$) e antitripsina alfa-1 ($p \leq 0.01$) e negativa com os valores sanguíneos de hemoglobina ($p \leq 0.05$).

3.8.2.1. - Exame microscópico e etiologia da diarreia (Quadros 3.21, 3.22 e 3.23)

Quadro 3.21 - Presença de leucócitos e eritrócitos nas fezes:

etiologia		leucócitos				eritrócitos			
		positiva		negativa		positiva		negativa	
	nº	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Bactérias invasivas	70	68	97.1	2	2.9*	30	42.9*	34	57.1
Outra etiologia	202	50	24.8	152	75.2	11	5.5	191	94.5

* $p \leq 0.0001$

Quadro 3.22 - Agentes identificados e presença de leucócitos ou eritrócitos nas fezes:

agente	total	leucócitos		erotrócitos	
	nº	nº	%	nº	%
Rotavirus	109	35	32.1	8	7.3
Adenovirus	3	1	33.3	0	0.0
EPEC	56	34	60.7	7	12.5
ETEC	13	2	15.3	0	0.0
EIEC	6	6	100.0	3	50.0
EAEC	2	0	0.0	0	0.0
Salmonella	41	39	95.1	14	34.1
Campylobacter	9	9	100.0	5	55.6
Yersinia	8	8	100.0	3	37.5
Shigella	7	7	100.0	5	71.4
Ascaris	18	10	55.6	1	5.6
Trichiuris	9	4	44.4	1	11.1
Giardia	3	2	66.7	0	0.0
Sem agente	66	16	24.2	3	4.5
População	**272**	**118**	**43.4**	**41**	**15.1**

3.8.2.1.1. - Leucócitos

Em 68 (57.6%), dos 118 doentes com leucócitos nas fezes, identificámos bactérias invasivas, isoladas ou associadas entre si ou a outro agente enteropatogénico; nos outros 50 (42.4%), identificámos *Rotavirus* em 6, EPEC em 10, *Rotavirus* mais EAEC em 1, *Rotavirus* mais EPEC em 8, *Rotavirus* mais EPEC e *Ascaris* em 2, *Rotavirus* mais ETEC em 1, *Rotavirus* mais *Ascaris* em 1, *Rotavirus* mais *Staphylococcus* em 1, EPEC mais *Ascaris* em 2, EPEC mais *Ascaris* e *Trichiura* em 1 e ETEC mais *Giardia* em 1.

Todos os doentes com bactérias invasivas, excepto 2 com *Salmonella enteritidis*, tinham leucócitos nas fezes.

Dos 35 doentes com *Rotavirus* e leucócitos nas fezes, 29 (82.9%) tinham outro agente patogénico associado: bactérias invasivas em 15, EPEC em 8, EPEC mais *Ascaris* em 2, EAEC em 1, ETEC em 1, *Staphylococcus aureus* em 1 e *Ascaris* em 1.

Dos 34 doentes com EPEC e leucócitos, 11 (32.4%) tinham bactérias invasivas associadas.

Estatisticamente, e comparando entre si os grupos etiológicos, tinham, significativamente, menos vezes leucócitos as fezes (Quadro 3.23):

- no grupo ***Rotavirus*** que nos grupos EPEC ($p<0.005$), EIEC ($p\leq0.001$) *Salmonella* ($p<0.0001$), *Yersinia* ($p<0.0005$), *Campylobacter* ($p<0.001$), *Shigella* ($p<0.0005$), *Rotavirus*/bactérias ($p\leq0.0001$), Bactérias invasivas ($p\leq0.0001$), Sem agente ($p<0.05$) ou no conjunto dos outros doentes ($p<0.0001$).
- no grupo **EPEC** que nos grupos *Salmonella* ($p\leq0.001$), Bactérias invasivas ($p\leq0.005$) ou *Rotavirus*/bactérias ($p\leq0.05$).
- no grupo **ETEC** que nos grupos EIEC ($p\leq0.01$), *Salmonella* ($p\leq0.0001$), *Campylobacter* ($p\leq0.05$), *Yersinia* ($p\leq0.005$), *Shigella* ($p\leq0.005$), Bactérias invasivas ($p\leq0.0001$) ou *Rotavirus*/bactérias ($p\leq0.05$).
- no grupo **Parasitas** que nos grupos EIEC ($p\leq0.05$), *Salmonella* ($p\leq0.0005$), *Yersinia* ($p\leq0.05$), *Shigella* ($p\leq0.05$), Bactérias invasivas ($p\leq0.0001$) ou *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p\leq0.005$).
- no grupo **Sem agente** que nos grupos EIEC (0.005), *Salmonella* ($p\leq0.0001$), *Campylobacter* ($p\leq0.05$), *Yersinia* ($p\leq0.01$), *Shigella* ($p\leq0.01$), Bactérias invasivas ($p\leq0.05$), *Rotavirus*/bactérias ($p\leq0.0005$) ou no resto dos doentes em conjunto ($p\leq0.0001$).

Tinham, também, mais vezes leucócitos, comparadas com **os outros doentes em conjunto**, as fezes na diarreia por EIEC ($p\leq0.05$), *Salmonella* ($p\leq0.0001$), Bactérias invasivas ($p\leq0.0001$) ou *Rotavirus*/bactérias ($p\leq0.0001$).

3.8.2.1.2. - Eritrócitos

Identificámos bactérias invasivas em 30 (73.2%) de 41 amostras de fezes com eritrócitos; nas 11 restantes, em 3 não identificámos qualquer agente patogénico, em 3 identificámos EPEC, em 1 EAEC, em 1 *Staphylococcus aureus* e em 3 *Rotavirus*.

Dos 8 doentes com *Rotavirus* e eritrócitos nas fezes, apenas 3 não tinham outro agente associado; 2 tinham bactérias invasivas, 1 EPEC, 1 EAEC e 1 *Staphylococcus aureus*.

Dos 7 doentes com EPEC e eritrócitos nas fezes, identificámos bactérias invasivas em 4 e *Ascaris lumbricoides* em 1.

Quadro 3.23 - Etiologia e presença de leucócitos ou eritrócitos nas fezes:

agente	total	leucócitos		erotrócitos	
	nº	nº	%	nº	%
Rotavirus	56	6	10.7	3	5.4
Rotavirus c/s	41	5	12.2	2	4.9
Rotavirus s/s	9	1	11.1	0	0.0
EPEC	22	10	45.5	1	4.5
ETEC	6	0	0.0	0	0.0
EIEC	5	5	100.0	2	40.0
Salmonella	27	26	96.3	12	44.4
Campylobacter	3	3	100.0	3	100.0
Yersinia	4	4	100.0	3	75.0
Shigella	4	4	100.0	3	75.0
Bactérias invas.	53	52	98.1	28	52.8
Rotav./EPEC	16	8	50.0	1	6.3
Rotav./ETEC	6	1	16.7	0	0.0
Rotav./bact. invas.	16	15	93.8	2	12.5
Parasitas	7	1	14.3	0	0.0
Sem agente	66	16	24.2	3	4.6
População	272	118	43.4	41	15.1

A observação de eritrócitos foi, significativamente, menos frequente nas fezes de

- do grupo ***Rotavirus*** que dos grupos *Salmonella* ($p \leq 0.005$), *Campylobacter* ($p \leq 0.005$), *Yersinia* ($p \leq 0.001$), *Shigella* ($p \leq 0.001$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.0001$), Sem agente ($p < 0.05$) ou no resto da população ($p < 0.005$).
- do grupo **EPEC** que dos grupos *Salmonella* ($p \leq 0.005$), *Campylobacter* ($p \leq 0.005$), *Shigella* ($p \leq 0.005$), *Yersinia* ($p \leq 0.005$) ou Bactérias invasivas ($p \leq 0.001$).
- do grupo **ETEC** que do grupo *Campylobacter* ($p \leq 0.05$) ou Bactérias invasivas ($p \leq 0.001$).
- do grupo ***Rotavirus*/bactérias** que dos grupos *Salmonella* ($p \leq 0.05$), *Campylobacter* ($p \leq 0.05$), *Shigella* ($p \leq 0.05$), *Yersinia* ($p \leq 0.05$) ou Bactérias invasivas ($p \leq 0.01$).
- do grupo **Parasitas** que dos grupos *Campylobacter* ($p \leq 0.05$), *Yersinia* ($p \leq 0.05$), *Shigella* ($p \leq 0.05$) ou Bactérias invasivas ($p \leq 0.05$).
- do grupo **Sem agente** que dos grupos EIEC ($p \leq 0.05$), *Salmonella* ($p \leq 0.0001$), *Campylobacter* ($p \leq 0.0001$), *Yersinia* ($p \leq 0.0005$), *Shigella* ($p \leq 0.0005$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.0001$) ou nos outros doentes em conjunto ($p \leq 0.005$).

Tinham mais vezes eritrócitos que o **conjunto dos outros doentes** amostras de fezes de diarreia por *Salmonella* ($p \leq 0.0001$), *Campylobacter* ($p \leq 0.005$), *Shigella* ($p \leq 0.01$), *Yersinia* ($p \leq 0.01$) ou Bactérias invasivas ($p \leq 0.001$).

3.8.3. - pH e Substâncias redutoras (Quadro 3.24)

Nas fezes de 204 crianças, com 7.8±8.5 (0.5-56) meses de idade, medimos o pH e pesquisámos substâncias redutoras. Cinquenta e uma (25%) tinham pH <6 e 52 (25.5%) substâncias redutoras.

Foi positiva a correlação entre a presença de substâncias redutoras e pH < 6 ($p \leq 0.0001$); no entanto, 4 amostras de fezes (2 com *Rotavirus* e EPEC, 1 com EAEC e 1

sem qualquer agente identificado) com pH < 6 não tinham substâncias redutoras e 5 (2 com *Rotavirus*, 1 com *Rotavirus* mais ETEC LT$^+$ e 2 sem agente patogénico identificado) com substâncias redutoras tinham pH ≥6.

A frequência de pH <6 e de substâncias redutoras foi maior nas crianças de menor idade (p≤0.025): a idade média das crianças com pH<6 era de 5.9±4.8 (0.6-22) meses e a das com substâncias redutoras de 5.8±4.7 (0.6-22).

As características macroscópicas e osmolalidade das fezes não influenciaram a frequência de pH < 6 e de presença de substâncias redutoras que, no entanto, se correlacionava inversamente com o seu teor de electrólitos embora, de forma significativa, apenas com [Cl^-] (p≤0.025) e [K^+] (p≤0.01).

Três amostras de fezes (1 com *Rotavirus* e 2 sem qualquer agente patogénico identificado) de crianças alimentadas com leite materno tinham pH < 6 e substâncias redutoras.

Quadro 3.24 - Fezes - pH e substâncias redutoras (nº=204):

	nº	%
pH < 6	51	25.0
pH ≥ 6	153	75.0
Substâncias redutoras ≥ 0.5	52	25.5
Substâncias redutoras < 0.5	152	74.5

3.8.3.1. - pH e substâncias redutoras e etiologia da diarreia (Quadro 3.25)

Identificámos *Rotavirus* em todos os doentes com fezes com pH <6 ou com substâncias redutoras, excepto em 18 (35.3%) (10 sem qualquer agente identificado, 1 com ETEC LT$^+$, 1 com EIEC, 2 com EPEC, 2 com *Salmonella*, 1 com *Staphylococcus aureus* e 1 com *Campylobacter*).

Quadro 3.25 - Fezes - pH e substâncias redutoras nas fezes (nº=204):

		Ph				substâncias redutoras			
		< 6		≥ 6		≥ 0.5		< 0.5	
etiologia	**total**	**nº**	**%**	**nº**	**%**	**nº**	**%**	**nº**	**%**
Rotavirus	43	18	41.9	25	58.2	20	46.5	23	53.5
Rotavirus c/s	33	14	42.4	19	57.6	16	48.5	17	51.5
Rotavirus s/s	4	0	0.0	4	100.0	0	0.0	4	100.0
EPEC	14	2	14.3	12	85.7	2	14.2	12	85.7
ETEC	5	1	20.0	4	80.0	1	20.0	4	80.0
EIEC	4	1	25.0	3	75.0	1	25.0	3	75.0
Salmonella	22	2	9.1	20	90.9	2	9.1	19	90.9
Yersinia	3	0	0.0	3	100.0	0	0.0	3	100.0
Campylobacter	3	1	33.3	2	66.7	1	33.3	2	66.7
Shigella	2	0	0.0	2	100.0	0	0.0	2	100.0
Bactérias inv.	39	5	12.8	34	87.2	4	10.3	35	89.7
Rotav./bact.inv.	11	2	18.2	9	81.2	2	18.2	9	81.2
Rotav./EPEC	14	5	35.7	9	64.3	5	35.7	9	64.3
Rotav./ETEC	6	1	16.7	5	83.3	1	16.7	5	83.3
Parasitas	4	0	0.0	4	100.0	0	0.0	4	100.0
Sem agente	49	10	20.4	39	79.6	10	20.4	39	79.6
População	**204**	**51**	**25.0**	**153**	**75.0**	**52**	**25.5**	**152**	**74.5**

Trinta e três (38.4%) dos 86 doentes com *Rotavirus*, associado ou não a outros agentes, 5 (11.6%) dos 43 com bactérias invasivas, isoladas ou associadas entre si ou a outros agentes que não *Rotavirus*, e 9 (18.4%) dos 49 com diarreia de etiologia não esclarecida, tinham pH <6. O pH das fezes inferior a 6 foi, estatisticamente, mais frequente nos doentes com ***Rotavirus*** que nos com bactérias invasivas ($p \leq 0.005$) ou sem agente patogénico identificado nas fezes ($p \leq 0.05$).

Nos grupos Salmonella e EPEC os vários serotipos não influenciaram o pH ou a presença de substâncias redutoras.

A identificação de parasitas nunca esteve associada a fezes com pH <6 ou com substâncias redutoras.

3.8.4. - Osmolalidade e electrólitos (Quadro 3.26)

Nas fezes de 138 doentes, 90 (65.2%) do sexo masculino e 48 (34.8%) do sexo feminino, com 8.1±8.5 (0.6-56) meses de idade, determinámos a osmolalidade e o teor de electrólitos.

Em 16 (11.6%) amostras fecais a $[Na^+]$ era ≥ 90 mOsm/kg e, em 37 (26.8%), estava compreendida entre 60 e 89 mOsm/kg. No entanto, somente em 8 (50.0%) das amostras do primeiro grupo e em 2 (5.4%) das do segundo, a osmolalidade foi ≤ a $2x\{[Na^+]+[K^+]\}$.

Não havia correlação significativa entre os valores da osmolalidade e a concentração de electrólitos, pH ou presença de substâncias redutoras. A osmolalidade fecal e a osmolaridade sérica correlacionavam-se directamente entre si, embora de forma não significativa ($p \leq 0.1$). A correlação entre os níveis séricos e fecais dos electrólitos apenas era significativa, e negativamente, para o Na^+ ($p \leq 0.05$).

Nas fezes, havia correlação positiva ($p \leq 0.0001$) entre $[Na^+]$ e $[Cl^-]$ e negativa entre $[K^+]$ e $[Na^+]$ ou $[Cl^-]$.

O tempo de diarreia antes do internamento, o número de dejecções, a presença de muco ou sangue e a situação nutricional dos doentes não influenciaram a osmolalidade e o teor de electrólitos das fezes; a idade dos doentes apenas influenciou, directamente, a $[K^+]$ ($p \leq 0.005$).

Quadro 3.26 - Fezes - Osmolalidade e electrólitos (nº=138):

		$\bar{x} \pm s$	âmbito
Osmolalidade	(mOsm/Kg)	343.8 ± 86.9	190-790
$[Na^+]$	(mEq/l)	50.3 ± 32.4	2-126
$[K^+]$	(mEq/l)	51.7 ± 26.6	7-175
$[Cl^-]$	(mEq/l)	44.3 ± 32.1	3-121

3.8.4.1. - Osmolalidade e electrólitos e etiologia da diarreia (Quadro 3.27)

Nos 17 doentes com $[Cl^-]$ fecal ≥90 mOsm/kg identificámos os agentes seguintes: ETEC em 3, *Rotavirus* mais ETEC em 2, *Rotavirus* em 3, EPEC em 3, EPEC mais *Ascaris* em 1, *Salmonella* em 2 e *Ascaris* em 1. Em 2 doentes não identificámos qualquer dos agentes pesquisados.

Nos 10 doentes com osmolalidade fecal < $2\{[Na^+]+[K^+]\}$ os agentes identificados foram: ETEC em 2, EPEC em 2, ETEC mais *Rotavirus* em 1, EPEC mais *Ascaris* em 1,

Rotavirus em 1, *Rotavirus* mais *Salmonella* em 1 e EIEC mais *Ascaris* e *Trichiuris* em 1. Num doente não identificámos qualquer dos agentes pesquisados.

3.8.4.1.1. - Osmolalidade (Quadro 3.27)

Os valores da osmolalidade das fezes apenas são significativamente diferentes quando comparámos:

- o grupo ***Rotavirus*** com os grupos EPEC ($p<0.01$), ETEC ($p\leq0.01$), *Yersinia* ($p\leq0.05$) ou *Shigella* ($p<0.005$).
- os grupos ***Salmonella*** e **EPEC** com o resto da população ($p<0.025$ e $p\leq0.01$).

Quadro 3.27 - Fezes - Osmolalidade (mOsm/Kg), electrólitos (mEq/l) e etiologia da diarreia:

etiologia		osmolalidade		[Na^+]		[K^+]		[Cl^-]	
	total	$\bar{x} \pm s$	âmbito	$\bar{x} \pm s$	âmbito	$\bar{x} \pm s$	âmbito	$\bar{x} \pm s$	âmbito
Rotavirus	30	358 ± 79	257 - 580	43 ± 31	4 - 126	45 ± 22	7 - 95	39 ± 34	3 - 121
Rotavirus c/s	26	356 ± 80	257 - 580	48 ± 31	4 - 126	45 ± 22	7 - 59	44 ± 44	3 - 121
Rotavirus s/s	1		319		17		66		10
EPEC	7	307 ± 54	232 - 378	81 ± 40	8 - 119	29 ± 17	17 - 61	74 ± 40	10 - 115
ETEC	6	311 ± 81	241 - 461	95 ± 18	70 - 117	37 ± 17	20 - 59	84 ± 24	50 - 110
EIEC	-								
Salmonella	3	399 ± 147	259 - 790	71 ± 18	42 - 97	42 ± 17	22 - 80	57 ± 26	22 - 110
Campylobacter	-								
Yersínia		308 ± 146	205 - 411	67 ± 24	50 - 89	42 ± 36	6 - 67	53 ± 17	41 - 65
Shigella	2	290 ± 44	259 - 322	38 ± 28	18 - 58	76 ± 41	46 - 105	33 ± 38	6 - 60
Bactérias inv.	21	370 ± 132	205 - 790	64 ± 20	18 - 97	50 ± 23	16 - 105	52 ± 24	6 - 110
*Rota./*Bact.inv.	10	324 ± 78	190 - 435	40 ± 26	12 - 84	76 ± 42	37 - 175	37 ± 28	6 - 100
*Rotav./*EPEC	8	368 ± 95	256 - 580	44 ± 29	10 - 80	52 ± 26	19 - 89	43 ± 33	5 - 95
*Rotav./*ETEC	6	325 ± 96	223 - 480	82 ± 20	59 - 109	40 ± 14	22 - 59	74 ± 25	45 - 100
Parasitas	4	362 ± 52	300 - 414	56 ± 41	17 - 114	47 ± 44	18 - 113	57 ± 41	25 - 98
Sem agente	6	343 ± 73	195 - 555	36 ± 28	2 - 105	57 ± 23	13 - 107	32 ± 28	4 - 96
População	**138**	**344 ± 87**	**190 - 790**	**50 ± 32**	**2 - 126**	**52 ± 27**	**7 - 175**	**44 ± 32**	**3 - 121**

3.8.4.1.2. - [Na^+] fecal e etiologia da diarreia (Quadro 3.27)

O teor fecal de Na^+ foi significativamente diferente quando comparámos, entre si, os grupos:

- ***Rotavirus*** com EPEC ($p\leq0.01$), ETEC ($p\leq0.001$), *Salmonella* ($p\leq0.005$), *Yersinia* ($p\leq0.005$), Bactérias invasivas ($p\leq0.01$) ou *Rotavirus*/ETEC ($p\leq0.01$);
- **EPEC** com *Shigella* ($p\leq0.05$), *Rotavirus* /bactérias invasivas ($p\leq0.025$), Sem agente ($p\leq0.005$) e com o resto dos doentes ($p\leq0.01$).
- **ETEC** com *Salmonella* ($p\leq0.025$), *Shigella* ($p\leq0.025$), Bactérias invasivas ($p\leq0.025$), *Rotavirus*/EPEC ($p\leq0.005$), Sem agente ($p\leq0.001$) ou com os outros doentes, em conjunto ($p\leq0.005$).
- ***Salmonella*** com *Shigella* ($p\leq0.05$), *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p\leq0.005$), *Rotavirus*/ EPEC ($p\leq0.025$), Sem agente ($p\leq0.005$) ou com os outros doentes ($p\leq0.0025$).

3.8.4.1.3. - [K^+] e etilogia da diarreia (Quadro 3.27)

O teor fecal de K^+ foi significativamente diferente quando comparámos os grupos:

- ***Rotavirus*** com EPEC (p≤0.05), *Shigella* (p≤0.0001), *Rotavirus*/bactérias invasivas (p≤0.01) ou Sem agente (p≤0.05).
- **EPEC** com Bactérias invasivas (p≤0.05), *Rotavirus*/bactérias invasivas (p≤0.025) ou o resto dos doentes (p≤0.025).
- ***Salmonella*** com *Shigella* (p≤0.05), *Rotavirus*/bactérias invasivas (p≤0.025) ou Sem agente (p≤0.05).
- **Bactérias invasivas** com os outros doentes em conjunto (p≤0.005).

3.8.4.1.4. - [Cl^-] fecal e etiologia da diarreia

O teor fecal de Cl^- foi significativamente diferente quando comparámos os grupos:

- ***Rotavirus*** com EPEC (p≤0.025), ETEC (p≤0.001), *Yersinia* (p≤0.05) ou *Rotavirus*/ETEC (p≤0.025).
- **EPEC** com *Salmonella* (p≤0.05), Bactérias invasivas (p≤0.005), *Rotavirus*/bactérias invasivas (p≤0.005), Sem agente (p≤0.0001) ou com os outros doentes (p≤0.005).
- **ETEC** com *Salmonella* (p≤0.05), Bactérias invasivas (p≤01), *Rotavirus*/EPEC (p≤0.025), Sem agente (p≤0.001) ou os outros doentes em conjunto (p≤0.005).
- ***Rotavirus*/ETEC** com *Rotavirus*/bactérias invasivas (p≤0.0025), Sem agente (p≤0.005) ou o resto doentes (p≤0.025).
- **Sem agente** com *Salmonella* (p≤0.005), Bactérias invasivas (p≤0.005) ou *Rotavirus*/ bactérias invasivas (p≤0.005).

Nos grupos EPEC e *Salmonella*, os serotipos não influenciaram a osmolalidade e o teor de electrólitos das fezes.

3.8.5. - Antitripsina alfa-1 (Quadro 3.28)

Avaliámos o teor fecal de antitripsina alfa-1 em fezes de 59 crianças com diarreia (do grupo I), 37 (53.6%) do sexo masculino e 22 (46.4%) do sexo feminino, com 6.3±5.5 (0.5-27) meses de idade. Comparámos os valores obtidos com os de 26 crianças assintomáticas do mesmo grupo etário.

Os valores foram, significativamente, mais altos (p≤0.005) nas crianças com diarreia do que no grupo testemunha. Em 23 (39%) crianças com diarreia, mas em nenhuma das assintomáticas, os valores de antitripsina alfa-1 foram superiores à $\bar{x} \pm 2s$ do grupo testemunha.

Valores mais elevados ocorreram em crianças que tomaram antibióticos antes do internamento (p≤0.05) e nas com menor perda percentual de peso (p≤0.05). O seu teor não foi influenciado significativamente pela idade das crianças, situação nutricional ou sintomatologia clínica, e não teve correlação significativa com qualquer dos parâmetros analíticos estudados, nomeadamente com a presença de leucócitos ou eritrócitos nas fezes.

Não houve correlação significativa entre os teores sanguíneos e fecais de antitripsina alfa-1.

Quadro 3.28 - Fezes - antitripsina alfa-1 (mg/g de fezes liofilizadas):

	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito
Diarreia	59	2.80 ±4.15	< 0.23* - 18.31
Grupo testemunha	26	0.75 ±0.38	< 0.23 - 1.51

* limite inferior de sensibilidade do método.

p ≤ 0.01

3.8.5.1. - Antitripsina alfa-1 e etiologia da diarreia (Quadro 3.29

O teor de antitripsina alfa-1 não foi significativamente diferente nos vários grupos etiológicos.

Quadro 3.29 - Fezes - antitripsina alfa-1 (mg/g de fezes liofilizadas) e etiologia da diarreia:

etiologia	total			> $\bar{x} \pm 2s$ (1)	
	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº	%
Rotavirus	15	2.67 ± 4.58°	<0.23-16.43	5	33.3*
Rotavirus c/s	10	2.50 ± 5.01	<0.23-16.43	3	30.0
Rotavirus s/s	1		< 0.23	0	0.0
EPEC	1		3.44•	1	100.0°
ETEC	2	2.32 ± 2.80•	0.35-4.30	1	50.0
EIEC	1		0.48	0	0.0
Salmonella	9	4.25 ± 5.84•	<0.23-18.31	5	55.6#
Campylobacter	-				
Yersinia	-				
Shigella	2	2.97 ± 3.10•	0.78-5.16	1	50.0
Bactérias invas.	14	3.40 ± 4.85•	<0.23-18.31	7	50.0#
Rotav./bact.invas.	3	2.34 ± 2.40•	0.76-5.11	1	33.3
Rotav./EPEC	2	0.55 ± 0.60	<0.23-0.97	0	0.0
Rotav./ETEC	2	0.61 ± 0.99	0.54-0.68	0	0.0
Parasitas	1		8.27•	1	100.0•
Sem agente	15	3.08 ± 4.70*	<0.23-18.16	7	46.7#
Total	**59**	**2.80 ± 4.15***	**<0.23-18.31**	**23**	**41.1#**
Grupo testemunha	**26**	**0.75 ± 0.38**	**<0.23-1.51**	**0**	**0.0**

(1) valores do grupo testemunha p≤0.025 *p≤0.01 •p≤0.005 #p≤0.001 (relativamente ao grupo testemunha).

3.8.6. - IgA (Quadro 3.30)

Avaliámos o teor de IgA nas fezes de 52 crianças com diarreia aguda (do grupo I), 35 (67.3%) do sexo masculino e 17 (32.7%) do sexo feminino, com 6.1±5.3 (0.6-27) meses de idade e num grupo testemunha de 26 crianças assintomáticas do mesmo grupo etário.

Os valores foram significativamente mais elevados no grupo de crianças com diarreia (p≤0.0005). Em 25 (48.1%) das crianças com diarreia, e em 1 (3.8%) das assintomáticas, o teor fecal de IgA era superior à $\bar{x} \pm 2s$ do grupo testemunha.

Os teores de IgA não foram influenciados pela idade das crianças, situação nutricional, gravidade da perda percentual de peso ou sintomatologia clínica; em relação aos parâmetros analíticos estudados apenas verificámos correlação negativa com a osmolalidade das fezes (p≤0.05) e a presença de acidose metabólica (p≤0.25) e correlação positiva com o número de leucócitos (p≤0.05) ou linfócitos (p≤0.025) sanguíneos.

Foi positiva a correlação entre os valores de IgA no sangue e nas fezes (p≤0.05).

Não foi significativa a correlação entre o teor fecal de IgA e antitripsina.

Quadro 3.30 - Fezes - IgA (mg/g de fezes liofilizadas):

	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito
Diarreia	52	6.23 ± 9.52	< 0.56 - 50.86
Grupo testemunha	26	0.59 ± 0.54	< 0.5 - 2.05

* limite inferior de sensibilidade do método. p ≤0.0005

3.8.6.1. - IgA e etilogia da diarreia (Quadro 3.31)

Entre os grupos etiológicos, apenas foram significativas as diferenças entre o grupo ***Rotavirus*** e os grupos *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.005$), *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.025$) e Sem agente ($p \leq 0.05$).

Quadro 3.31 - Fezes - IgA (mg/g de fezes liofilizadas) e etiologia da diarreia:

etiologia	total			> $\bar{x}$ ± 2s (1)	
	nº	$\bar{x}$ ± s	âmbito	nº	%
Rotavirus	15	2.95 ± 3.89°	<0.56-13.70	6	40.0
Rotavirus c/s	10	3.05 ± 4.50	<0.56-13.70	3	30.0
Rotavirus s/s	1		<0.56	0	0.0
EPEC	1		<0.56	0	0.0
ETEC	2	5.71 ± 7.75*	<0.56-11.19	1	50.0
EIEC	1		<0.56	0	0.0
Salmonella	12	7.17 ± 14.25•	<0.56-50.86	3	25.0
Campylobacter	-				
Yersinia	-				
Shigella	1		2.59	1	50.0
Bactérias invas.	12	2.30 ± 3.00*	<0.56-8.84	5	41.7#
Rotav./bact.invas.	3	29.57 ± 20.34•	10.34-50.86	3	100.0
Rotav./EPEC	-				
Rotav./ETEC	2	12.44 ± 16.35•	0.88-24	1	50.0
Parasitas	1		1.05	0	0.0
Sem agente	13	7.60 ± 8.60*	<0.56-28.34	7	53.9#
Total	52	6.23 ± 9.52*	<0.56-50.86	25	48.1#
Grupo testemunha	26	0.59 ± 0.54	<0.56-2.05	1	3.8

(1) valores do grupo testemunha ° $p \leq 0.05$ *$p \leq 0.01$ •$p \leq 0.005$ #$p \leq 0.001$ (relativamente ao grupo testemunha)

3.9. - SANGUE

3.9.1. - Electrólitos e osmolaridade (Quadro 3.32)

Osmolaridade e teor de Na^+, Cl^- e K^+ foi determinado em todas as crianças do grupo I.

$[Na^+]$, $[Cl^-]$, $[K^+]$ e osmolaridade correlacionavam-se, positivamente, entre si ($p<0.0001$). Estes parâmetros foram inversamente influenciados pela idade dos doentes ($p \leq 0.05$): a idade média das 39 (14.3%) crianças com hipernatremia, 4.6±3.5 (0.6-19) meses, era menor ($p \leq 0.0001$) que a das com hiponatremia, 10.3±11.0 (0.5-54) ou isonatremia, 10.2±12.1 (0.6-60); a idade média das 97 (35.7%) crianças com hipercloremia, 6.6±7.4 (0.6-48) meses, era menor ($p \leq 0.005$) que a das com normo, 10.9±12.7(0.5-60), ou hipocloremia, 14.4±15.1(2-54); embora sem significado estatístico, a idade média das13 (4.8%) crianças com hipercaliemia, 5.1±5.1 (0.6-19), era menor que a das com normo, 9.8±12 (0.6-60), ou hipocaliemia, 9.5±9.5 (0.5-54).

A intensidade da perda percentual de peso era directamente relacionada com os valores séricos de osmolaridade ($p \leq 0.0001$), [Na+] ($p \leq 0.025$) e $[Cl^-]$ ($p \leq 0.005$), mas não com os de $[K^+]$. A gravidade da carência nutricional estava relacionada, inversamente, apenas

com a [Na+] ($p \leq 0.025$): era, significativamente, maior ($p \leq 0.05$) em crianças com hiponatremia do que com isonatremia ou hipernatremia.

Quadro 3.32 - Sangue - electrólitos (mEq/l) e osmolaridade (mOsm/l):

	nº	%	$\bar{x} \pm s$	âmbito
[Na^+] mEq/l				
[Na^+].<.150->130	195	71.7	139.0 ± 4.3	131 - 149
[Na^+] ≥ 150 mEq/l	39	14.3	156.6 ± 4.9	150 - 167
[Na^+] ≤ 130 mEq/l	38	14.0	126.6 ± 3.7	113 - 130
total	**272**	**100.0**	**139.8 ± 9.2**	**113 - 167**
[Cl^-] mEq/l				
[Cl^-] > 106	97	35.7	115.9 ± 7.4	107 - 138
[Cl^-] ≥94 - ≤106	161	59.1	101.1 ± 3.5	94 - 106
[Cl^-] < 94	14	5.2	88.2 ± 3.9	80 - 93
total	**272**	**100.0**	**105.0 ± 9.6**	**80 - 138**
[K^+] mEq/l				
[K^+] > 5.5	13	4.8	5.8 ± 0.2	5.6 - 6.1
[K^+] < 3.5	45	16.5	3.1 ± 0.3	2.2 - 3.4
[K^+] ≥3.5-≤5.5	214	78.7	4.3 ± 0.5	3.5 - 5.5
total	**272**	**100.0**	**4.2 ± 0.7**	**2.2 - 6.1**
Osmolaridade mOsm/l				
< 280	32	11.8	271 ± 6	257 - 278
> 295	148	54.4	318 ± 22	296 - 427
≥ 280-≤295	92	33.8	289 ± 4	281 - 295
total	**272**	**100.0**	**302 ± 24**	**257 - 427**

3.9.1.1. - Osmolaridade e electrólitos e etiologia da diarreia (Quadro 3.33 e 3.34)

3.9.1.1.1. - Osmolaridade (Quadro 3.33)

Foram significativas as diferenças de osmolaridade entre:

- o grupo ***Rotavirus*** e os grupos *Salmonella* ($p \leq 0.005$), EPEC ($p \leq 0.01$), ETEC ($p \leq 0.05$), *Yersinia* ($p \leq 0.001$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.025$) ou o resto dos doentes ($p \leq 0.01$).
- o grupo ***Salmonella*** e os grupos Shigella ($p \leq 0.005$), *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.01$) ou os outros doentes em conjunto ($p \leq 0.025$).
- o grupo **EPEC** e o grupo *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.05$).

3.9.1.1.2. - [Na^+] (Quadro 3.33)

[Na^+] foi significativamente mais elevada no grupo ***Rotavirus*** que nos grupos EPEC ($p \leq 0.025$), ETEC ($p \leq 0.025$), *Salmonella* ($p \leq 0.005$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.005$), Parasitas ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.05$) ou no conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.005$).

Foi, significativamente, inferior:

- no grupo ***Salmonella*** que nos grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.005$), *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.025$), *Rotavirus*/ EPEC ($p \leq 0.025$), *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.005$), Sem agente ($p \leq 0.01$) ou nos outros doentes ($p \leq 0.005$).

- no grupo ***Rotavirus*/ETEC** que no grupo Bactérias invasivas ($p \leq 0.025$) ou no conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.05$).

Hipernatremia foi, significativamente, mais frequente:

- no grupo ***Rotavirus*** que nos grupos *Salmonella* ($p \leq 0.05$) ou Sem agente.
- no grupo ***Rotavirus*/ETEC** que nos grupos EPEC ($p \leq 0.05$), *Salmonella* ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.05$) ou no conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.05$).

Hiponatremia foi mais frequente no grupo ***Salmonella*** que nos grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.05$) ou nos outros doentes em conjunto ($p \leq 0.05$).

Quadro 3.33 - Sangue - [Na^+] (mEq/l), osmolaridade (mOsm/l) e etiologia da diarreia:

etiologia	total	[Na+]						Osmolaridade	
	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito	≥ 150		≤ 130		$\bar{x} \pm s$	âmbito
				nº	%	nº	%		
Rotavirus	56	143 ± 10	120-167	13	23.2	5	8.9	310 ± 26	260-380
Rotavirus c/s	41	142 ± 9	120-162	7	17.1	4	9.8	309 ± 24	259-358
Rotavirus s/s	9	147 ± 10	133-167	4	44.4	0	0.0	318 ± 31	286-380
EPEC	22	137 ± 6	128-154	1	4.5	5	22.7	295 ± 14	275-341
ETEC	6	139 ± 7	133-156	1	16.7	0	0.0	301 ± 19	283-324
EIEC	5	139 ± 8	132-153	1	20.0	0	0.0	306 ± 18	286-334
Salmonella	27	134 ± 7	120-155	1	3.7	8	29.6	292 ± 17	262-354
Campylobacter	3	135 ± 1	134-137	0	0.0	0	0.0	297 ± 20	295-299
Yersinia	4	133 ± 5	126-137	0	0.0	1	25.0	284 ± 11	272-298
Shigella	4	142 ± 8	130-150	1	25.0	1	25.0	314 ± 37	267-359
Bactérias inv.	53	137 ± 9	113-164	7	13.2	11	20.8	299 ± 24	257-359
Rotav./bact.inv.	16	140 ± 8	128-161	3	18.8	2	12.5	304 ± 22	274-348
Rotav./EPEC	16	141 ± 11	124-162	4	25.0	1	6.3	306 ± 31	273-374
Rotav./ETEC	6	148 ± 14	126-162	3	50.0	1	16.7	319 ± 32	270-347
Parasitas	7	136 ± 6	126-144	0	0.0	0	0.0	311 ± 14	270-312
Sem agente	66	139 ± 7	120-164	6	9.1	7	10.6	302 ± 26	262-327
População	**272**	**139 ± 9**	**113-167**	**39**	**14.3**	**38**	**14.0**	**302 ± 24**	**257-380**

3.9.1.1.3. - [Cl^-] (Quadro 3.34)

[Cl^-] foi significativamente mais elevada no grupo ***Rotavirus***, que nos grupos EPEC ($p \leq 0.025$), ETEC ($p \leq 0.025$), *Salmonella* ($p \leq 0.005$), *Yersinia* ($p \leq 0.0001$), *Shigella* ($p \leq 0.0001$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.005$), *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.005$) ou no conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.005$).

Foi significativamente inferior no grupo ***Salmonella*** que nos grupos *Rotavirus*/ bactérias invasivas ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.005$), *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.025$) ou nos outros doentes, em conjunto ($p \leq 0.025$,) e no grupo ***Yersinia*** que no grupo ETEC ($p \leq 0.05$).

3.9.1.1.4. - [K^+] (Quadro 3.34)

Apenas são significativas as diferenças do valor de [K^+] quando comparámos os grupos:

- ***Rotavirus*** com ETEC (p≤0.025), *Yersinia* (p≤0.0001), *Shigella* (p≤0.0001), *Rotavirus*/ bactérias invasivas ou Parasitas (p≤0.025).
- ***Rotavirus*/bactérias invasivas** com EPEC (p≤0.01), Bactérias invasivas (p≤0.05) ou com os outros doentes, em conjunto (p≤0.025).

Os valores séricos de osmolaridade e de concentração de electrólitos não foram influenciados pelos serotipos dos grupos EPEC e *Salmonella*.

Quadro 3.34 - Sangue - electrólitos e etiologia da diarreia:

etiologia	total	$[Na^+]$ mEq/l		$[Cl^-]$ mEq/l		$[K^+]$ mEq/l	
	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito	$\bar{x} \pm s$	âmbito	$\bar{x} \pm s$	âmbito
Rotavirus	56	143 ±10	120-167	110 ±11	87-138	4.2 ± 0.7	2.6-6.1
Rotavirus c/s	41	142 ± 9	120-162	110 ±11	87-138	4.2 ± 0.8	2.6-6.1
Rotavirus s/s	9	148 ±11	133-167	111 ±11	95-130	4.1 ± 0.5	3.4-4.7
EPEC	22	137 ± 6	128-154	104 ± 6	93-115	4.4 ± 0.8	3.1-6.1
ETEC	6	140 ± 8	133-156	103 ± 4	100-110	3.9 ± 0.6	3.3-4.9
EIEC	5	140 ± 8	132-153	107 ±11	100-126	4.2 ± 0.4	3.9-4.8
Salmonella	27	135 ± 7	120-155	102 ± 5	95-121	4.1 ± 0.8	2.4-5.6
Campylobacter	3	136 ± 2	134-137	101 ± 6	94-105	4.0 ± 0.9	3.2-5.0
Yersinia	4	134 ± 5	126-137	99 ± 3	95-102	3.7 ± 0.5	3.1-4.2
Shigella	4	142 ± 9	130-150	99 ± 4	95-103	3.7 ± 0.6	3.0-4.3
Bactérias inv.	53	138 ±10	113-164	104 ± 9	84-130	4.2 ± 0.7	2.4-6.0
Rotav./bact.inv.	16	141 ± 9	128-161	107 ±10	90-125	3.8 ± 0.6	3.1-5.6
Rotav./EPEC	16	141 ±11	124-162	109 ±10	97-128	4.1 ± 1.1	2.2-5.9
Rotav./ETEC	6	148 ±14	126-162	111 ±14	95-131	3.9 ± 1.3	2.3-6.0
Parasitas	7	136 ± 6	126-144	100 ± 3	95-105	4.1 ± 0.4	3.5-4.5
Sem agente	66	139 ± 8	120-164	105 ± 9	85-127	4.3 ± 0.6	3.1-5.9
População	272	**140 ± 9**	**113-167**	**105 ±10**	**80-138**	**4.2 ± 0.7**	**2.2-6.1**

3.9.2. - Ureia

O valor médio de ureia, determinado nos 272 doentes do grupo I, era de 48.6±26.8 (9-258) mg/100ml; em 189 (69.5%) foi > 36 mg/l.

Foi mais elevado em crianças de maior idade (p≤0.005) e teve correlação directa com os níveis séricos de osmolaridade (p≤0.0001), $[Na^+]$ (p≤0.0001), $[Cl^-]$ (p≤0.0001), $[K^+]$ (p≤0.05), ácido úrico (p≤0.0001), glicose (p≤0.0001), com o número de leucócitos (p≤0.005), neutrófilos (p≤0.005) e linfócitos (p≤0.025) e, também, com a gravidade da perda percentual de peso (p≤0.0001); não foi influenciado, significativamente, pela situação nutricional dos doentes, presença de acidose metabólica ou pela concentração sérica das proteínas.

3.9.2.1. - Ureia e etiologia da diarreia (Quadro 3.35)

Os valores séricos de ureia foram significativamente diferentes entre:

- o grupo ***Rotavirus*** e os grupos ETEC (p≤0.005) ou *Yersinia* (p≤0.005).
- o grupo **EIEC** e os grupos EPEC (p≤0.05), ETEC (p≤0.05), *Yersinia* (p≤0.025) ou Parasitas (p≤0.025).

No entanto, o número de doentes com ureia >36 mg/dl não foi significativamente diferente nos vários grupos.

Quadro 3.35 - Sangue - ureia e etiologia da diarreia:

etiologia	total	ureia (mg/dl)			
	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº (1)	%
Rotavirus	56	51.7 ± 25.7	14 - 142	43	76.8
Rotavirus c/s	41	52.2 ± 26.8	14 - 142	31	75.6
Rotavirus s/s	9	47.8 ± 28.1	20 - 109	6	66.7
EPEC	22	43.6 ± 15.3	15 - 85	16	72.7
ETEC	6	45.0 ± 9.3	35 - 58	5	83.3
EIEC	5	58.6 ± 9.3	49 - 70	5	100.0
Salmonella	27	45.3 ± 17.8	17 - 85	19	70.4
Campylobacter	3	53.3 ± 9.5	46 - 65	3	100.0
Yersinia	4	29.3 ± 19.2	19 - 58	1	25.0
Shigella	4	69.3 ± 56.1	8 - 148	3	75.0
Bactérias invas.	53	49.1 ± 26.1	9 - 148	37	69.8
Rota./bact.invas.	16	48.3 ± 20.5	15 - 82	11	68.8
Rotav./EPEC	16	50.9 ± 35.1	16 - 148	11	68.8
Rotav./ETEC	6	49.3 ± 10.3	35 - 61	5	83.3
Parasitas	7	42.7 ± 10.9	34 - 64	7	85.7
Sem agente	65	49.6 ± 35.6	10 - 258	41	62.1
População	272	**48.6 ± 26.8**	**8 - 258**	**189**	**69.5**

(1) nº e percentagem de doentes com ureia > 36 mg/dl.

3.9.3. - Ácido úrico

O teor médio de ácido úrico sanguíneo, determinado em 226 doentes, 135 (59.7%) do sexo masculino e 91 (40.3%) do sexo feminino, com 9.5±11.6 (0.6 a 59) meses de idade, foi de 5.8±2.8 (2.2-18.5) mg/100ml. Cento e onze (49.1%) tinham hiperuricemia.

O seu teor foi independente da idade dos doentes, da amplitude da perda percentual do peso, da presença de acidose e do valor sanguíneo de leucócitos, linfócitos, proteína C reactiva ou antitripsina alfa-1; foi menor nas crianças malnutridas ($p \leq 0.05$), maior nas com hipertermia ($p \leq 0.01$) ou sem anemia ($p \leq 0.01$) e teve correlação directa com os valores sanguíneos de [Na^+] ($p \leq 0.0005$), [Cl^-] ($p \leq 0.005$), osmolaridade ($p \leq 0.0001$), glicose ($p \leq 0.025$), ureia ($p \leq 0.0001$), ALT, AST ($p \leq 0.005$), proteínas totais ($p \leq 0.005$), albumina ($p \leq 0.005$), globulina gama ($p \leq 0.005$) e de neutrófilos ($p \leq 0.005$).

3.9.3.1. - Ácido úrico e etiologia da diarreia (Quadro 3.36)

As diferenças no teor sanguíneo de ácido úrico foram significativas quando comparámos:

- o grupo ***Rotavirus*** com os grupos ETEC ($p \leq 0.005$) ou *Yersinia* ($p \leq 0.005$).
- o grupo ***Salmonella*** com o grupo *Shigella* ($p \leq 0.05$).
- o grupo ***Rotavirus*/bactérias invasivas** com os grupos EPEC ($p \leq 0.025$), *Salmonella*, Bactérias invasivas ($p \leq 0.025$) ou *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.05$).
- o grupo **Parasitas** com o grupo bactérias invasivas ($p \leq 0.05$).

O número de doentes com hiperuricemia foi, significativamente, **maior** no grupo:

- ***Rotavirus*/bactérias invasivas** que nos grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.05$), ETEC ($p \leq 0.05$), EIEC ($p \leq 0.05$), Parasitas ($p \leq 0.01$) Sem agente ($p \leq 0.05$) ou no conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.005$).
- ***Rotavirus*/EPEC** que no grupo Parasitas ($p \leq 0.05$).

No grupo EPEC, o seu teor não foi influenciado pelos serotipos; nos doentes do grupo *Salmonella*, apenas o serotipo *tiphymurium* esteve mais vezes associado a valores elevados ($p \leq 0.025$).

Quadro 3.36 - Sangue - ácido úrico e etiologia da diarreia:

etiologia	total	ácido úrico (mg/dl)			
	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº (1)	%
Rotavirus	49	6.0 ± 3.1	3.0 - 6.0	24	42.9
Rotavirus c/s	35	6.5 ± 3.4	3.0 - 6.0	19	46.3
Rotavirus s/s	9	5.1 ± 2.9	2.6 - 9.0	4	44.4
EPEC	17	5.2 ± 1.7	2.8 - 8.2	8	47.1
ETEC	6	4.5 ± 1.9	2.6 - 8.3	1	16.7
EIEC	5	5.3 ± 1.7	3.9 - 8.3	1	20.0
Salmonella	23	5.2 ± 1.5	2.8 - 8.8	10	43.4
Campylobacter	2	3.5 ± 1.4	3.4 - 3.6	0	0.0
Yersinia	3	4.0 ± 1.3	3.1 - 5.4	1	33.3
Shigella	4	6.1 ± 1.3	4.4 - 7.4	3	75.0
Bactérias invas.	47	5.4 ± 2.2	2.2 - 2.0	20	42.6
Rota./bact.invas.	13	7.2 ± 2.7	3.7 - 3.9	11	84.6
Rotav./EPEC	12	6.9 ± 3.2	3.9 - 5.8	9	75.0
Rotav./ETEC	5	5.9 ± 2.8	2.2 - 0.1	3	60.0
Parasitas	7	4.1 ± 1.4	2.4 - 5.7	1	20.0
Sem agente	50	5.3 ± 2.4	2.7 - 4.6	22	43.1
População	**226**	**5.8 ± 2.8**	**2.2 -89.0**	**111**	**49.1**

(1) nº e percentagem de doentes com teor de ácido úrico superior ao valor próprio para a idade.

3.9.4. - Glicose

O valor médio de glicemia, determinado nos 272 doentes do grupo I, foi de 98.9±32.4 (35-282) mg/100ml. Em 93 crianças (34.2%) foi > 100 mg/100 ml.

A frequência de hiperglicemia não foi influenciada pela idade e situação nutricional dos doentes. Os valores de glicemia correlacionavam-se directamente com os valores séricos de osmolaridade ($p \leq 0.0001$), [Na^+] ($p \leq 0.005$), [Cl^-] ($p \leq 0.01$), ácido úrico ($p \leq 0.025$), número de dejecções ($p \leq 0.05$), intensidade da perda de peso ($p \leq 0.0001$) e com o número de neutrófilos ($p \leq 0.05$).

Treze (14.0%), dos 93 doentes com hiperglicemia, tinham hipernatremia (p n.s.), 26 (28.0%) hiponatremia ($p \leq 0.0001$), 75 (80.6%) hiperuremia ($p \leq 0.01$), 18 (19.4%), hipopotassemia (p n.s.) e 3 (3.2%) hiperpotassemia (p n.s.).

3.9.4.1. - Glicose e etiologia da diarreia (Quadro 3.37)

A glicemia foi significativamente mais elevada apenas em doentes do grupo ***Salmonella*** quando comparado com o resto da população ($p < 0.05$).

O número de doentes com hiperglicemia, em cada grupo etiológico, não foi significativamente diferente.

Quadro 3.37 - Sangue - glicose e etiologia da diarreia:

etiologia	total	glicose (mg/dl)			
	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº (1)	%
Rotavirus	56	99.1 ± 32.6	35-220	21	37.5
Rotavirus c/s	41	99.0 ± 26.8	35-220	14	34.2
Rotavirus s/s	9	104.3 ± 25.1	47-131	6	66.7
EPEC	22	93.0 ± 22.6	42-135	7	31.8
ETEC	6	101.4 ± 37.0	72-175	2	33.3
EIEC	5	105.4 ± 25.7	77-140	3	60.0
Salmonella	27	111.1 ± 47.5	64-280	11	40.7
Campylobacter	3	103.3 ± 41.6	70-150	1	33.3
Yersinia	4	121.3 ± 69.7	75-225	1	25.0
Shigella	4	90.5 ± 32.3	43-113	2	50.0
Bactérias invas.	53	108.1 ± 40.7	43-280	22	41.5
Rota./bact.invas.	16	100.2 ± 27.4	74-180	5	31.3
Rotav./EPEC	16	92.3 ± 28.1	60-165	4	25.0
Rotav./ETEC	6	93.7 ± 20.9	65-126	2	33.3
Parasitas	7	95.1 ± 8.0	84-105	2	28.6
Sem agente	66	97.6 ± 34.8	46-282	22	33.3
População	**272**	**98.9 ± 32.4**	**35-282**	**93**	**34.2**

(1) nº e percentagem de doentes com glicemia >100 mg/dl.

3.9.5. - Aminotransferases

Em 238 doentes, 146 (61.3%) do sexo masculino e 92 (38.7%) do sexo feminino, com 9.4±11.4 (0.6-60) meses de idade, determinámos o teor sérico de ALT e de AST cujo valor médio foi de 22.0±29.5 (3-330) U.I. e de 26.6±60.6 (95-830), respectivamente.

Trinta e nove (16.4%) doentes tinham níveis elevados de ALT e 39 (16.4%) de AST. Os valores das aminotransferases foram independentes da situação nutricional dos doentes, da gravidade da desidratação, da uremia ou das alterações leucocitárias, e tiveram correlação positiva com a uricemia ($p \leq 0.005$) e a frequência de hipertermia ($p \leq 0.025$). A idade das crianças apenas influenciou, e inversamente, os valores de ALT ($p \leq 0.025$).

3.9.5.1. - Aminotransferases e etiologia da diarreia (Quadro 3.38)

3.9.5.1.1. - ALT (Quadro 3.38)

Eram significativas as diferenças dos valores séricos de ALT quando comparámos:

- o grupo ***Rotavirus*** com os grupos ETEC ($p \leq 0.005$), *Yersinia* ($p \leq 0.001$) ou *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.005$).
- o grupo ***Campylobacter*** com os grupos EPEC ($p \leq 0.025$), *Salmonella* ($p \leq 0.005$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.005$) ou Parasitas ($p \leq 0.005$).
- o grupo ***Yersinia*** com os grupos *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.05$).
- o grupo ***Rotavirus*/ETEC** com os grupos EPEC ($p \leq 0.025$), *Salmonella* ($p \leq 0.01$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.005$), Sem agente ($p \leq 0.005$) ou com os outros doentes em conjunto ($p \leq 0.025$).
- o grupo ***Rotavirus*/Bactérias invasivas** com os grupos *Salmonella* ($p < 0.05$) ou Bactérias invasivas (0.05).
- o grupo **Bactérias invasivas** com o grupo Parasitas ($p \leq 0.05$).

Nos grupos EPEC ou *Salmonella*, não foram significativas as diferenças entre os serotipos.

O número de doentes com valores elevados foi significativamente diferente entre os grupos:

- ***Rotavirus*/ETEC** e os grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.05$), *Salmonella* ($p \leq 0.05$) ou Bactérias invasivas ($p \leq 0.05$).
- ***Rotavirus*/Bactérias invasivas** e os grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.05$), *Salmonella* ($p \leq 0.01$) ou Bactérias invasivas ($p \leq 0.005$).
- **Bactérias invasivas** e o conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.005$).

3.9.5.1.2. - AST (Quadro 3.38)

Eram significativas as diferenças dos valores séricos de AST quando comparámos:

- o grupo ***Rotavirus*** com os grupos ETEC ($p \leq 0.05$), *Shigella* ($p \leq 0.0001$) ou *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.0005$).
- o grupo ***Shigella*** com os grupos EPEC ($p \leq 0.05$), ETEC ($p \leq 0.025$), EIEC ($p \leq 0.025$), *Salmonella* ($p \leq 0.005$), *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.005$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.005$) ou Sem agente ($p \leq 0.025$).
- o grupo ***Campylobacter*** com os grupos *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.025$), Parasitas ($p \leq 0.005$) ou Sem agente ($p \leq 0.05$).
- o grupo ***Rotavirus*/ETEC** com os grupos EPEC ($p \leq 0.05$), *Salmonella* ($p \leq 0.025$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.005$), Sem agente ($p \leq 0.005$) ou com o conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.001$).
- o grupo ***Rotavirus*/bactérias** invasivas com os grupos *Salmonella* ($p \leq 0.005$) ou Bactérias invasivas ($p \leq 0.05$).

Quadro 3.38 - Sangue - aminotransferases (U/l) e etiologia da diarreia:

etiologia	total	ALT (U/l)				AST (U/l)			
	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº (1)	%	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº (1)	%
Rotavirus	50	20.4 ±12.5	7- 56	7	14.0	21.1 ± 7.2	5-50	7	14.0
Rotavirus c/s	37	19.3 ±12.1	7- 56	5	13.5	20.8 ± 6.0	5-34	6	16.2
Rotavirus s/s	9	18.7 ± 5.7	11- 30	0	0.0	21.1 ± 5.5	13-26	0	0.0
EPEC	20	17.7 ±16.5	4- 79	3	16.0	19.5 ± 9.9	7-52	3	16.0
ETEC	6	16.4 ± 5.6	10- 25	0	0.0	17.6 ± 3.5	14-24	0	0.0
EIEC	5	17.0 ± 9.0	8 - 30	0	0.0	16.8 ± 4.6	11-22	0	0.0
Salmonella	22	14.7 ± 9.4	3- 44	1	4.6	19.6 ± 10.0	8-46	3	13.6
Campylobacter	2	58.0 ±59.4	16-100	1	50.0	43.0 ± 35.4	18-68	1	50.0
Yersinia	4	9.5 ± 4.4	7- 16	0	0.0	19.0 ± 6.4	13-28	1	25.0
Shigella	2	24.0 ±13.5	10- 37	1	50.0	47.3 ± 28.2	15-67	2	100.0
Bactérias invas.	47	16.9 ±15.4	3-100	4	8.5	21.9 ± 14.0	8-68	8	17.0
Rota./bact.invas.	15	27.0 ±15.2	5- 64	7	46.7	21.9 ± 6.4	13-33	6	40.0
Rotav./EPEC	12	17.8 ± 8.6	7- 35	2	16.7	19.8 ± 4.7	11-27	1	8.3
Rotav./ETEC	5	93.4 ±133.6	11-330	3	60.0	195.0 ± 355.2	20-830	3	60.0
Parasitas	7	10.6 ± 4.7	6- 18	0	0.0	16.6 ± 3.9	12-21	0	0.0
Sem agente	57	22.8 ±22.6	5-141	12	20.7	22.6 ± 15.9	6-75	13	22.8
População	**238**	**22.0 ±29.5**	**3-330**	**39**	**16.4**	**26.6 ± 60.6**	**5-830**	**39**	**16.4**

(1) número e percentagem de doentes com valor acima\ do limite superior para a idade.

As diferenças no número de doentes com valores elevados, nos vários grupos etiológicos, foram estatisticamente significativas quando comparámos:

- ***Shigella*** com *Rotavirus* ($p \leq 0.05$), Parasitas ($p \leq 0.05$) ou com o conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.05$).
- ***Rotavirus*** com *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.05$).

Nos grupos EPEC e *Salmonella*, os serotipos não influenciaram, significativamente, os valores de AST.

3.9.6. - Proteínas totais e fraccionamento electroforético (Quadro 3.39)

No sangue de 238 crianças, 145 (60.9%) do sexo masculino e 93 (39.1%) do sexo feminino, com 9.3±11.1 (0.5-59) meses de idade, determinámos o teor de proteínas totais. O seu valor tinha correlação positiva com a idade dos doentes ($p \leq 0.005$) e negativa com a gravidade da desidratação ($p \leq 0.0001$) (fig. 15). Embora a correlação com a situação nutricional dos doentes não fosse significativa, 27 (40.9%) dos 66 (27.7%) doentes com proteínas totais inferiores a 60 gr/l eram malnutridos.

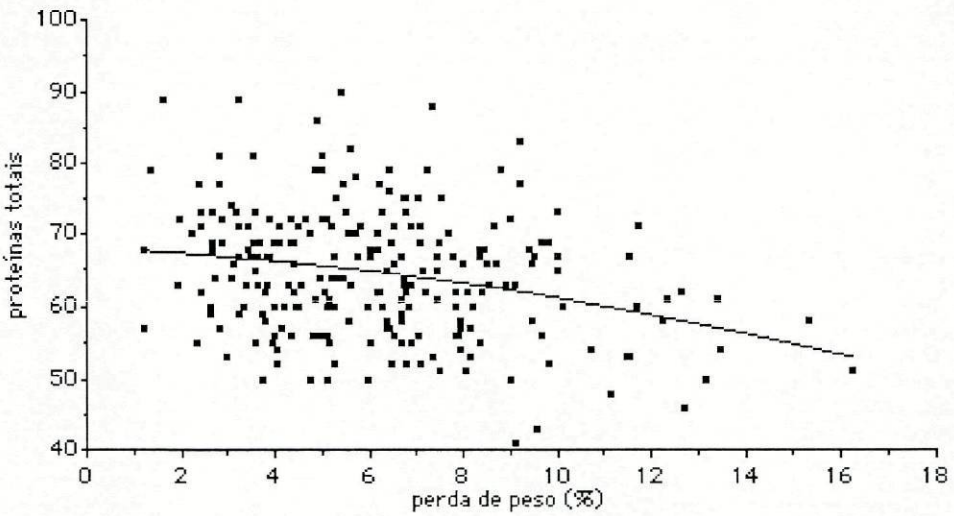

Fig. 15 - Curva de regressão das proteínas totais em função da perda percentual de peso.

Em 218 crianças, 136 (62.4%) do sexo masculino e 82 (37.6%) do sexo feminino, com 9.1±11.2 (0.5-59) meses de idade, efectuámos também, o fraccionamento electroforético das proteínas.

A sua situação nutricional não influenciou, significativamente, os valores de albumina; no entanto, dos 28 (12.8%) doentes com albumina inferior a 35 gr/l, 18 (64.3%) eram malnutridos. Os valores de albumina não foram afectados pela idade dos doentes ou pela gravidade da desidratação mas tinham correlação negativa com a duração da diarreia antes do internamento ($p \leq 0.025$) e correlação positiva com os níveis séricos de osmolaridade ($p \leq 0.025$), de [Na^+] ($p \leq 0.05$) e de [Cl^-] ($p \leq 0.025$).

Os valores de globulina gama foram independentes da situação nutricional dos doentes e da osmolaridade e teor de electrólitos séricos; porém, tinham correlação positiva com a idade dos doentes ($p \leq 0.005$) e negativa com a gravidade da desidratação ($p \leq 0.005$). Relativamente aos valores normais para a idade, 43 (19.7%) doentes tinham globulina gama abaixo do limite inferior e 7 (3.2%) acima do limite superior.

Quadro 3.39 - Sangue - proteínas totais, albumina e globulina gama (gr/l):

	total	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº (1)	%
Proteínas totais	238	65 ± 9	41-90	66	27.7
Albumina	218	42 ± 6	25-61	28	12.8
Globulina gama	218	7 ± 3	2-22	43	19.7

(1) número e percentagem de doentes com valores abaixo do limite inferior de normalidade, para a idade.

3.9.6.1 - Proteínas totais e partição electroforética e etiologia da diarreia (Quadro 3.40)

Quadro 3.40 - Sangue - proteínas totais, albumina e globulina gama (gr/l) e etiologia da diarreia:

etiologia	total	proteínas totais				albumina					globul. gama		
	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº (1)	%	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº (2)	%	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito
Rotavirus	49	65 ± 8	52-88	9	18.4	47	43 ± 5	35-56	0	0.0	47	7 ± 3	2-15
Rotavirus c/s	37	66 ± 8	52-88	7	18.9	37	43 ± 5	35-56	0	0.0	37	6 ± 2	2- 8
Rotavirus s/s	6	68 ± 8	61-83	0	0.0	6	45 ± 5	39-54	0	0.0	6	6 ± 2	2- 8
EPEC	16	66 ±10	52-90	6	31.6	16	40 ± 6	28-48	3	18.8	16	7 ± 2	2-11
ETEC	6	58 ± 5	50-66	4	66.6	5	40 ± 4	33-44	1	20.0	5	5 ± 3	3- 9
EIEC	5	65 ± 6	58-71	1	20.0	5	40 ± 6	33-47	0	0.0	5	8 ± 2	6-10
Salmonella	23	60 ± 7	50-71	11	47.8	23	38 ± 5	30-45	5	21.7	23	7 ± 1	6- 9
Campylobacter	2	67 ± 6	63-71	0	0.0	2	44 ± 1	43-44	0	0.0	2	7 ± 0	7- 7
Yersinia	4	66 ± 6	58-71	1	25.0	3	39 ± 5	33-53	1	33.3	3	7 ± 2	6- 9
Shigella	4	64 ±12	53-76	2	50.0	4	40 ± 7	35-49	0	0.0	4	8 ± 5	4-15
Bactérias inv.	48	63 ± 8	48-81	18	37.5	43	39 ±16	25-50	10	23.3	43	7 ± 3	3-15
Rotav./bact.inv.	15	69 ±10	53-89	3	20.0	14	45 ± 7	31-61	1	7.1	14	8 ± 3	3-14
Rotav./EPEC	13	66 ± 7	58-78	3	23.1	12	42 ± 5	33-49	1	8.3	12	7 ± 2	5-10
Rotav./ETEC	5	60 ± 7	50-71	1	20.0	5	42 ± 4	35-47	0	0.0	5	6 ± 2	4- 7
Parasitas	6	68 ± 5	58-73	1	16.7	4	41 ± 8	29-48	1	25.0	4	7 ± 1	5- 8
Sem agente	56	63 ± 9	41-89	18	32.1	54	42 ± 7	26-60	9	16.7	54	6 ± 3	2-14
População	**240**	**65 ± 9**	**41-90**	**66**	**27.5**	**218**	**42 ± 6**	**25-61**	**28**	**12.8**	**218**	**7 ± 3**	**2-15**

(1) nº de doentes com proteínas totais <60 mg/l; (2) número de doentes com albumina <35 g/l.

3.9.6.1.1. - Proteínas totais e etiologia da diarreia (Quadro 3.40)

Foram significativas as diferenças observadas no teor sanguíneo de proteínas totais entre os grupos:

- **ETEC** e *Rotavirus* ($p \leq 0.05$), EPEC ($p \leq 0.05$), EIEC ($p \leq 0.05$), *Campylobacter* ($p \leq 0.05$), *Yersinia* ($p \leq 0.05$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.001$), *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.01$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.025$), Parasitas ($p \leq 0.001$) ou o conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.05$).
- ***Salmonella*** e *Rotavirus* ($p \leq 0.001$), EPEC ($p \leq 0.025$), *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.001$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.01$), Parasitas ($p \leq 0.01$) ou o conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.001$).

- ***Rotavirus*/bactérias invasivas** e Bactérias invasivas ($p \leq 0.001$), *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.025$) ou o conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.05$).

3.9.6.1.2. - Albumina e etiologia da diarreia (Quadro 3.40)

As diferenças do valor sanguíneo de albumina foram significativas entre os grupos:

- ***Rotavirus*** e EPEC ($p \leq 0.05$).
- **EPEC** e *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.05$).
- ***Salmonella*** e *Rotavirus* ($p \leq 0.001$), *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.001$), *Rotavirus*/ EPEC ($p \leq 0.025$), *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.01$) ou o conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.001$).
- ***Rotavirus*/bactérias invasivas** e o conjunto dos outros doentes($p \leq 0.05$).

3.9.6.1.3. - Gama globulina (Quadro 3.40)

Apenas foram significativas as diferenças observadas no valor sanguíneo de gama globulina entre o grupo **ETEC** e os grupos EIEC ($p \leq 0.05$) e *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.05$).

3.9.7. - Imunoglobulinas (Quadro 3.41)

Em 116 doentes do grupo I, 69 (59.5%) do sexo masculino e 47 (40.5%) do sexo feminino, com 6.6±5.5 (0.6-27) meses de idade, determinámos os níveis séricos de IgG, IgM e IgA que se correlacionavam directamente com os valores de globulina gama ($p \leq 0.005$) e de proteínas totais ($p \leq 0.05$).

Os valores de IgG correlacionavam-se positivamente com a idade ($p \leq 0.05$) e gravidade do estado nutricional ($p \leq 0.05$) dos doentes mas não com a gravidade da desidratação.

Os valores de IgM tinham correlação positiva com a idade dos doentes ($p \leq 0.01$) mas não com a gravidade da desnutrição e da desidratação.

Os valores de IgA tinham correlação positiva com a intensidade da perda percentual de peso ($p \leq 0.05$) mas não com a idade e estado nutricional dos doentes.

Catorze (12.1%) dos doentes tinham valores de IgG acima do limite superior de normalidade para a idade, o mesmo acontecendo em 49 (42.4%) doentes para a IgM e em 27 (23.3%) para a IgA.

Quadro 3.41 - Sangue - imunoglobulinas (mg/100ml):

	total	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº (1)	%
Imunoglobulina G	116	786 ± 358	279 - 2393	14	12.1
Imunoglobulina M	116	68 ± 3	23 - 198	49	42.9
Imunoglobulina A	116	121 ± 66	23 - 433	27	23.3

(1) nº e percentagem de doentes com valor acima do limite de normalidade para a idade.

3.9.7.1. - Imunoglobulinas e etiologia da diarreia (Quadro 3.42)

3.9.7.1.1. - IgG (Quadro 3.42)

Foram significativas as diferenças observadas no valor sérico de IgA entre os grupos:

- ***Campylobacter*** e ETEC ($p \leq 0.05$) e *Shigella* ($p \leq 0.05$).
- ***Rotavirus*/bactérias invasivas** e ETEC ($p \leq 0.025$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.01$) ou o conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.05$).

3.9.7.1.2. - IgM (Quadro 3.42)

Foram significativas as diferenças observadas no valor sérico de IgM entre os grupos:

- **EIEC** e *Rotavirus* ($p \leq 0.05$), *Shigella* ($p \leq 0.05$) ou *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.025$).
- **Bactérias invasivas** e *Rotavirus* ($p \leq 0.05$) ou *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.025$).

3.9.7.1.3. - IgA (Quadro 3.42)

Foram significativas as diferenças observadas no valor sérico de IgA entre os grupos:

- **EIEC** e ETEC ($p \leq 0.05$), *Shigella* ($p \leq 0.025$), *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.025$) ou Parasitas ($p \leq 0.025$).
- ***Campylobacter*** e ETEC ($p \leq 0.05$), *Salmonella* ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.05$) ou os outros doentes, em conjunto ($p \leq 0.025$).

O número de doentes com valores de imunoglobulinas acima do limite superior de normalidade, para a idade, não foi significativamente diferente nos vários grupos etiológicos.

Quadro 3.42 - Sangue - imunoglobulinas (mg/dl) e etiologia da diarreia:

etiologia	IgG			IgM			IgA		
	total	$\bar{x} \pm s$	âmbito	total	$\bar{x} \pm s$	âmbito	total	$\bar{x} \pm s$	âmbito
Rotavirus	26	821±459	334-2393	26	130±63	53-247	26	69±41	25-152
Rotavirus c/s	19	774±340	334-1369	19	140±69	54-247	26	74±42	25-152
Rotavirus s/s	1	710		1	144		1	62	
EPEC	9	774±325	362-1341	9	139±82	54-264	9	68±24	32-115
ETEC	5	613±197	443- 890	5	108±40	80-176	5	57±16	45- 82
EIEC	3	860±527	509-1467	3	67±18	52- 87	3	32±12	23- 45
Salmonella	18	833±402	280-1561	18	119±55	53-254	18	68±38	23-137
Campylobacter	2	932±110	854-1009	2	80±11	72- 88	2	122±80	65-178
Yersinia	1	560		1	57		1	196	
Shigella	2	644±141	544- 744	2	98±13	89-107	2	63±1	62- 63
Bactérias inv.	22	768±347	280-1651	22	102±51	53-204	22	75±49	23-196
Rotav./bact.inv.	6	1078±390	528-1539	6	133±41	67-180	6	74±31	35-123
Rotav./EPEC	4	607±158	447- 798	4	100±39	56-138	4	50±16	33- 67
Rotav./ETEC	3	861±482	451-1392	3	180±106	90-296	3	66±23	45- 91
Parasitas	2	880± 35	855- 905	2	150±71	100-200	2	81±21	66- 95
Sem agente	34	732±302	279-1686	34	118±80	23-433	34	66±40	24-198
População	**116**	**786±358**	**279-2393**	**116**	**121±66**	**23-433**	**116**	**68±38**	**23-198**

3.9.8. - Hemograma (Quadro 3.43)

O hemograma foi efectuado em todos os doentes do grupo I; em 94 (34.6%) a taxa de hemoglobina era menor que o limite inferior de normalidade, para a idade.

Considerando os valores médios próprios de cada grupo etário, 175 doentes (64.3%) tinham número elevado de leucócitos, 206 (75.7%) de neutrófilos, 100 (36.8%) de linfócitos e 3 (1.1%) de eosinófilos.

Apenas a taxa de hemoglobina estava directamente relacionada com a gravidade da carência nutricional ($p \leq 0.05$) e com más condições sociais ($p \leq 0.05$).

Só o número de linfócitos estava inversamente relacionado com a idade dos doentes ($p \leq 0.0001$).

Os valores de hemoglobina, leucócitos, neutrófilos, linfócitos e eosinófilos tinham correlação positiva ($p \leq 0.025$) com a osmolaridade sérica e independência em relação à sintomatologia clínica.

Quadro 3.43 - hemograma (nº=272):

		$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº	%
Hemoglobina	g/dl	11.4 ± 1.7	7.2 - 22.4	94*	34.6
Leucócitos	nº/ml	12720 ± 5663	3000 - 38200	175°	64.3
Neutrófilos	nº/ml	6512 ± 4361	420 - 25403	206°	75.7
Linfócitos	nº/ml	5285 ± 2778	382 - 15375	100°	36.8
Eosinófilos	nº/ml	64 ± 122	0 - 864	4••	1.5

* doentes com hemoglobina menor que o limite inferior de normalidade, para a idade; ° doentes com valores acima da média para a idade.•• doentes com eosinófilos acima do limite superior, para a idade.

3.9.8.1. - Hemograma e etiologia da diarreia

3.9.8.1.1. - Hemoglobina (Quadro 3.44)

Quadro 3.44 - Sangue - hemoglobina (g/dl) e etiologia da diarreia:

etiologia	total	hemoglobina			
	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº (1)	%
Rotavirus	56	11.6 ± 1.5	9.0-17.1	14	25.0
Rotavirus c/s	41	11.5 ± 1.5	9.0-17.1	12	29.3
Rotavirus s/s	9	11.9 ± 1.4	10.2-13.7	2	22.2
EPEC	22	11.6 ± 1.6	8.5-14.6	6	27.3
ETEC	6	11.3 ± 1.6	9.6-14.3	2	33.3
EIEC	5	10.8 ± 1.8	7.7-12.1	1	20.0
Salmonella	27	11.2 ± 1.5	9.0-14.2	10	37.0
Campylobacter	3	10.7 ± 1.3	9.3-11.6	1	33.3
Yersinia	4	10.2 ± 0.7	9.6-11.1	3	75.0
Shigella	4	11.4 ± 1.7	8.9-12.4	1	25.0
Bactérias inv.	53	11.0 ± 1.6	7.7-14.4	21	39.6
Rota/bact.inv.	16	11.3 ± 1.6	8.3-14.4	5	31.3
Rotav./EPEC	16	12.1 ± 3.0	9.6-22.4	5	31.3
Rotav./ETEC	6	11.8 ± 1.9	10.0-14.5	2	33.3
Parasitas	7	11.6 ± 1.6	9.1-14.0	3	42.9
Sem agente	66	11.3 ± 2.0	7.2-17.2	28	42.4
População	**272**	**11.4 ± 1.7**	**7.2-22.4**	**94**	**34.6**

(1) nº e percentagem de doentes com hemoglobina < percentil 5 para a idade.

As diferenças dos valores de hemoglobina entre os vários grupos, apenas foram significativas quando comparámos:

- ***Yersinia*** com *Rotavirus* ($p<0.0001$), EPEC ($p\leq0.05$) ou ETEC ($p\leq0.05$).
- **EPEC** com *Salmonella* ($p<0.05$).

Nos grupos EPEC e *Salmonella*, os serotipos não influenciaram os valores de hemoglobina.

O número de doentes com hemoglobina abaixo do percentil 5 para a idade não foi significativamente diferente nos vários grupos.

3.9.8.1.2. - Leucócitos (Quadro 3.45)

Quadro 3.45 - Sangue - número de leucócitos (nº/ml) e etiologia da diarreia:

etiologia	total	leucócitos			
	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº (1)	%
Rotavirus	56	11650 ± 4982	3000-29600	21	37.5
Rotavirus c/s	41	11224 ± 4892	3000-29600	15	36.6
Rotavirus s/s	9	14466 ± 5867	7000-23900	3	33.3
EPEC	22	10672 ± 3468	5700-17800	13	59.1
ETEC	6	10114 ± 4110	5400-17000	4	66.7
EIEC	5	14110 ± 7581	4800-23700	2	40.0
Salmonella	27	14322 ± 7691	5100-38200	8	29.6
Campylobacter	3	12367 ± 6231	7000-19200	1	33.3
Yersinia	4	14125 ± 3628	9900-18300	1	25.0
Shigella	4	18725±12927	8400-35500	2	50.0
Bactérias invas.	53	14996 ± 7760	4800-38200	15	28.3
Rota./bact.invas.	16	13675 ± 4727	6400-25200	2	12.5
Rotav./EPEC	16	14513 ± 6889	3700-32600	4	25.0
Rotav./ETEC	6	12983 ± 3716	9100-18700	1	16.7
Parasitas	7	10314 ± 4669	6000-18000	4	57.1
Sem agente	66	12537 ± 4838	3600-26500	22	33.3
População	**272**	**12720 ± 5663**	**3000-38200**	**92**	**33.8**

(1) doentes com número de leucócitos abaixo do valor médio para a idade.

O número de leucócitos foi, significativamente, **menor**:

- no grupo ***Rotavirus*** que nos grupos *Yersinia* ($p\leq0.0001$), *Shigella* ($p\leq0.001$), Bactérias invasivas ($p\leq0.01$) ou *Rotavirus*/bactérias ($p\leq0.025$).
- no grupo **EPEC** que nos grupos EIEC ($p\leq0.005$), *Shigella* ($p\leq0.025$), *Salmonella* ($p\leq0.05$) ou *Rotavirus*/bactérias.
- no grupo **ETEC** que nos grupos *Yersinia* ($p\leq0.01$) ou *Shigella* ($p\leq0.05$).
- no grupo **Sem agente** que nos grupos *Shigella* ($p\leq0.05$), Bactérias invasivas ($p\leq0.05$) ou *Rotavirus*/bactérias invasivas.

Foi, significativamente, **maior** nos grupos ***Shigella*** ($p\leq0.005$) ou **Bactérias invasivas** ($p\leq0.005$) que no conjunto dos outros doentes.

Nos grupos *Salmonella* e EPEC, não encontrámos diferenças significativas entre os serotipos.

O número de doentes com número de leucócitos inferior à média para a idade foi significativamente **maior**:

- no grupo **EPEC** que nos grupos Bactérias invasivas (p≤0.05), *Rotavirus*/bactérias invasivas (p≤0.05) ou no conjunto dos outros doentes (p≤0.05).
- no grupo **ETEC** que no grupo *Rotavirus*/bactérias (p≤0.05).

3.9.8.1.3. - Neutrófilos (Quadro 3.46)

Quadro 3.46 - Sangue - número de neutrófilos (nº/ml) e etiologia da diarreia:

etiologia	total	neutrófilos			
	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº (1)	%
Rotavirus	56	5215 ± 3627	420-18056	20	35.7
Rotavirus c/s	41	4936 ± 3518	420-18056	15	36.6
Rotavirus c/s	9	7629 ± 4489	2380-16969	2	22.2
EPEC	22	5239 ± 2990	2025-12768	9	40.9
ETEC	6	3299 ± 1489	1290- 5440	4	66.7
EIEC	5	5957 ± 5222	2228-14931	2	40.0
Salmonella	27	7580 ± 5642	1610-25403	7	25.9
Campylobacter	3	6166 ± 6075	2126-13152	1	33.3
Yersinia	4	8428 ± 3826	4158-12993	1	25.0
Shigella	4	12283 ± 8558	4116-23075	2	50.0
Bcatérias invasivas	53	8279 ± 5669	1610-25403	9	17.0
Rotav./bact.invas.	16	8219 ± 4363	2900-15372	1	6.3
Rotav./EPEC	16	7378 ± 4027	1036-15844	4	25.0
Rotav./ETEC	6	7328 ± 3440	3100-11781	1	16.7
Parasitas	7	6142 ± 5023	1054-16732	1	16.7
Sem agente	66	6230 ± 4350	558-15105	13	19.7
População	**272**	**6512 ± 4361**	**420-25403**	**65**	**23.9**

(1) doentes com número de leucócitos abaixo do valor médio para a idade.

O número de neutrófilos foi, significativamente, **menor**:

- no grupo ***Rotavirus*** que nos grupos ETEC (p≤0.005), *Yersinia* (p≤0.0001), *Shigella* (p≤0.0001), Bactérias invasivas (p≤0.005) ou no conjunto dos outros doentes (p≤0.025).
- no grupo **EPEC** que nos grupos *Shigella* (p≤0.005), Bactérias invasivas (p≤0.05) ou *Rotavirus*/bactérias.
- no grupo **ETEC** que nos grupos *Yersinia* (p≤0.01), *Shigella* (p≤0.025), Bactérias invasivas (p≤0.005), *Rotavirus*/EPEC (p≤0.025), *Rotavirus*/ETEC (p≤0.025), Sem agente (p≤0.05) ou no conjunto dos outros doentes.
- no grupo **Sem agente** que nos grupos *Shigella* (p≤0.005), Bactérias invasivas ou *Rotavirus*/bactérias (p≤0.025).
- nos grupos ***Shigella*** (p≤0.05) ou **Bactérias invasivas** (p≤0.005) que no conjunto dos outros doentes.

O número de doentes com valores de leucócitos inferiores ao médio para a idade foi significativamente **maior:**

- no grupo ***Rotavirus*** que nos grupos Bactérias invasivas ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.05$) ou no conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.05$).
- no grupo **ETEC** que nos grupos Bactérias invasivas ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.05$), Sem agente ($p \leq 0.05$) ou no resto dos doentes ($p \leq 0.05$).
- no grupo **EPEC** que nos grupos Bactérias invasivas ($p \leq 0.05$) ou *Rotavirus*/bactérias invasivas ($p \leq 0.05$).

Não foram, estatisticamente, significativas as diferenças observadas entre os grupos de crianças com diarreia por bactérias invasivas.

3.9.8.1.4. - Linfócitos (Quadro 3.47)

Quadro 3.47 - Sangue - número de linfócitos (nº/ml) e etiologia da diarreia:

etiologia	total nº	linfócitos $\bar{x} \pm s$	linfócitos âmbito	nº (1)	%
Rotavirus	56	5534 ± 2601	1134-11126	35	62.5
Rotavirus c/s	41	5531 ± 2520	1134-10650	28	68.3
Rotavirus s/s	9	5960 ± 3402	1866-11126	4	44.4
EPEC	22	4549 ± 2121	1824-10692	17	77.3
ETEC	6	5795 ± 3348	2774-10062	4	66.7
EIEC	5	7080 ± 4814	1536-14775	2	40.0
Salmonella	27	5730 ± 3146	1122-13846	17	63.0
Campylobacter	3	5622 ± 2407	3150- 7957	1	33.3
Yersinia	4	4235 ± 1196	2470- 5080	4	100.0
Shigella	4	3848 ± 1814	1610- 5502	4	100.0
Bactérias invas.	53	5500 ± 3125	1112-14775	34	64.2
Rota./bact.invas.	16	4463 ± 2693	803- 8556	11	68.8
Rotav./EPEC	16	6022 ± 3221	1748-13040	7	43.8
Rotav./ETEC	6	5272 ± 1415	2730- 6600	3	50.0
Parasitas	7	3250 ± 1479	1598- 5760	6	85.7
Sem agente	66	5450 ± 2967	382-15375	39	59.1
População	**272**	**5285 ± 2778**	**382-15375**	**171**	**62.9**

(1) doentes com número de linfócitos abaixo do valor médio para a idade.

O número absoluto de linfócitos apenas foi significativamente diferente entre os grupos:

- **EPEC** e os grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.05$), EIEC ($p \leq 0.05$) e *Rotavirus*/EPEC ($p \leq 0.05$).
- **Parasitas** e os grupos *Rotavirus* ($p \leq 0.05$), ETEC ($p \leq 0.05$), EIEC ($p \leq 0.05$), *Salmonella* ($p \leq 0.05$), *Campylobacter* ($p \leq 0.025$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.05$), *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.005$), *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.005$), Sem agente ($p \leq 0.05$) ou o conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.05$).

O número de doentes com valores de linfócitos superiores à média da idade apenas foi significativamente diferente entre o grupo ***Rotavirus*** e os grupos *Campylobacter* (p≤0.005), *Yersinia* (p≤0.005) e *Shigella* (p≤0.005).

3.9.8.1.5. - Eosinófilos (Quadro 3.48)

Quadro 3.48 - Sangue - número de eosinófilos (nº/ml) e etiologia da diarreia:

etiologia	total	eosinófilos					
	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº (1)	%	nº (2)	%
Rotavirus	56	49 ± 115	0-552	0	0.0	48	85.7
Rotavirus c/s	41	28 ± 12	0-332	0	0.0	38	92.6
Rotavirus s/s	9	5 ± 12	0-35	0	0.0	6	66.7
EPEC	22	62 ± 97	0-352	0	0.0	15	68.2
ETEC	6	111± 70	0-194	0	0.0	2	33.3
EIEC	5	10 ± 22	0-50	0	0.0	5	100.0
Salmonella	27	75 ± 140	0-605	1	3.7	18	66.7
Campylobacter	3	41 ± 37	0-70	0	0.0	3	100.0
Yersinia	4	216 ± 146	0-312	0	0.0	1	25.0
Shigella	4	0 ± 0	0-0	0	0.0	4	100.0
Bactérias invas	53	62 ± 120	0-605	1	1.9	39	73.6
Rotav./EPEC	16	74 ± 159	0-600	1	6.3	11	68.8
Rotav./ETEC	6	15 ± 37	0-91	0	0.0	5	83.3
Rotav./bact.invas	16	62 ± 116	0-372	0	0.0	11	68.8
Parasitas	7	47 ± 94	0-248	0	0.0	4	57.1
Sem agente	66	89 ± 147	0-864	1	1.5	38	57.6
População	**272**	**64 ± 122**	**0-864**	**4**	**1.5**	**192**	**70.6**

(1) nº e percentagem de doentes com eosinófilos acima do valor máximo de normalidade, para a idade. (2) nº e percentagem de doentes com eosinófilos abaixo do valor médio normal, para a idade.

O número médio de eosinófilos foi significativamente diferente entre os grupos:

- ***Rotavirus*** e ETEC (p≤0.001) ou Sem agente (p≤0.05).
- ***Yersinia*** e *Rotavirus* (p≤0.001), EPEC (p≤0.001), EIEC (p≤0.001), *Salmonella* (p≤0.05), *Shigella* (p≤0.025), Bactérias invasivas (p≤0.01), *Rotavirus*/ETEC (p≤0.01), Parasitas (p≤0.01), Sem agente (p≤0.05) ou o conjunto dos outrs doentes (p≤0.01).
- ***Shigella*** e ETEC (p≤0.01) ou *Campylobacter* (p≤0.05).
- **ETEC** e EIEC (p≤0.01) ou *Rotavirus*/ETEC (p≤0.01).

A etiologia não influenciou o número de doentes com contagem de eosinófilos acima do limite superior de normalidade para a idade. No entanto, o número de doentes com contagem de eosinófilos abaixo do limite inferior de normalidade para a idade foi significativamente diferente entre o grupo ***Rotavirus*** e os grupos ETEC (p≤0.05), *Yersinia* (p≤0.05), Sem agente (p≤0.05) ou o conjunto dos outros doentes (p≤0.05).

3.9.9. - Proteínas de fase aguda (Quadros 3.49)

No primeiro dia de internamento, doseámos os níveis séricos de proteína C reactiva em 128 doentes, 77 (60.2%) do sexo masculino e 51 (39.8%) do sexo feminino, com

7.7±7.7 (0.6 a 54) meses de idade, e de antitripsina alfa-1 em 135 doentes, 79 (53.4%) do sexo masculino e 56 (41.5%) do sexo feminino, com 7.3±7.4 (0.6 a 54) meses de idade. Destes doentes, passadas 3 semanas, repetimos as determinações de proteína C reactiva em 73 e de antitripsina alfa-1 em 69.

Em 86 (67.2%) doentes, na primeira determinação, e em 18 (24.7%) na segunda determinação, o teor de proteína C reactiva foi ≥ 0.5 mg/dl (p≤0.0005).

Em 9 (6.7%) doentes, na primeira determinação, o teor de antitripsina alfa-1 foi ≥ 400 mg/l, enquanto que na segunda determinação em todos foi < 400 mg/dl (p n.s.).

Apenas na primeira determinação foi positiva a correlação entre os valores de Proteína C reactiva e de antitripsina alfa-1 (p≤0.005).

Os valores das duas proteínas de fase aguda não estavam significativamente relacionados com o estado nutricional dos doentes, gravidade da perda percentual de peso ou presença de acidose, otite ou infecção urinária. Também não foi significativa a correlação com os valores de ureia, glicose, ácido úrico, ou com os desvios dos valores de hemoglobina, leucócitos, neutrófilos ou linfócitos. Tinham correlação positiva com a presença nas fezes de leucócitos (p≤0.001), eritrócitos (p≤0.005) ou de muco (p≤0.025).

O teor de proteína C reactiva correlacionava-se inversamente com a idade dos doentes (p≤0.0001).

O teor de antitripsina alfa-1 correlacionava-se, positivamente, com os valores séricos de osmolalidade (p≤0.025) e, negativamente, com os de albumina (p≤0.025).

Quadro 3.49 - Sangue - proteína C reactiva (mg/dl) e antitripsina alfa-1 (mg/dl) na fase aguda e na convalescência (nº=118):

	proteína C reactiva					antitripsina alfa-1				
	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº(1)	%	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº(2)	%
Fase aguda	128	2.0 ± 2.8	0.2*- 12.0	86	67.2	135	254 ± 86	65-663	9	6.7
Convalescença	73	0.6 ± 1.4	0.2 - 11.3	18	24.7	69	205 ± 35	88-261	0	0.0

* limite inferior de sensibilidade do método. (1) nº e percentagem de doentes com valor ≥ a0.5 mg/dl. (2) nº e percentagem de doentes com valor ≥ 400 mg/dl.

3.9.9.1. - Proteínas de fase aguda e etiologia da diarreia

3.9.9.1.1. - Proteína C reactiva (Quadro 3.50)

No primeiro doseamento, a frequência de valores de proteína C reactiva ≥ 0.5 mg/dl era maior no grupo ***Salmonella*** do que nos grupos *Rotavirus* (p≤0.05), *Rotavirus*/EPEC (p≤0.05) ou Sem agente (p≤0.05).

Comparando os valores médios em cada grupo, foram significativas as diferenças entre:

- o grupo ***Rotavirus*** e os grupos EPEC (p≤0.01), ETEC (p≤0.05), *Salmonella* (p≤0.005), *Campylobacter* (p≤0.005), *Yersinia* (p≤0.025), *Shigella* (p≤0.005), Bactérias invasivas (p≤0.005), Sem agente (p≤0.05) ou o conjunto dos outros doentes (p≤0.025).
- o grupo ***Rotavirus*/EPEC** e os grupos EPEC (p≤0.05), ETEC (p≤0.025), *Salmonella* (p≤0.025), *Campylobacter* (p≤0.025), *Yersinia* (p≤0.025) e Bactérias invasivas (p≤0.025).

- o grupo ***Campylobacter*** e os grupos ETEC (p≤0.025), *Rotavirus*/bactérias invasivas (p≤0.005), *Rotavirus*/ETEC (p≤0.05), Sem agente (p≤0.01) ou o conjunto dos outros doentes (p≤0.025.
- o grupo **Sem agente** e o grupo *Salmonella* (p≤0.005) ou Bactérias invasivas (p≤0.005).
- os **outros doentes em conjunto** e os grupos *Salmonella* (p≤0.05) ou Bactérias invasivas (p≤0.01).

Na segunda determinação, 18 (24.7%) doentes tinham Proteína C reactiva ≥ 0.5 mg/dl, 8 (44.4%) dos quais com valores superiores aos da primeira determinação: 3 com *Rotavirus*, 3 com *Rotavirus* mais EPEC e 2 com diarreia de etiologia não esclarecida.

Quadro 3.50 - Sangue - proteína C reactiva (mg/dl) e etiologia da diarreia (fase aguda e convalescença):

etiologia	fase aguda					convalescença				
	nº*	$\bar{x} \pm s$	âmbito	≥5•	%	nº*	$\bar{x} \pm s$	âmbito	≥5•	%
Rotavirus	29	0.9 ± 1.3	0.2-7.0	17	58.6	21	0.5 ± 0.7	0.2-3.0	6	20.7
Rotavirus c/s	23	1.1 ± 1.4	0.2-7.0	15	65.2	18	0.6 ± 0.8	0.2-3.0	6	33.3
Rotavirus s/s	3	0.2 ± 0.0	0.2-0.2	0	0.0	2	0.2 ± 0.0	0.2-0.2	0	0.0
EPEC	4	3.4 ± 4.3	1.3-9.9	4	100.0	2	0.2 ± 0.0	0.2-0.2	0	0.0
ETEC	5	2.1 ± 1.8	0.2-5.0	4	80.0	1	0.2 ± 0.0	0.2-0.2	0	0.0
EIEC	1	0.6		1	100.0	1	0.2		0	0.0
Salmonella	11	3.7± 3.7	0.5-12.0	11	100.0	4	0.2 ± 0.0	0.2-0.2	0	0.0
Campylobacter	1	8.5		1	100.0	-				
Yersinia	3	2.9 ± 2.7	0.2-5.3	2	66.7	3	0.6 ± 0.6	0.2-1.3	1	33.3
Shigella	2	5.3 ± 6.6	0.6-10.0	2	100.0	2	0.9 ± 0.6	0.5-1.3	2	100.0
Bactérias inv.	20	3.9 ± 4.1	0.2-12.0	17	85.0	12	0.4 ± 0.4	0.2-1.3	3	25.0
Rotav./bac.inv.	4	0.7 ± 0.5	0.2-1.3	3	75.0	2	0.2 ± 0 .0	0.2-0.2	0	0.0
Rotav./EPEC	9	0.8 ± 0.7	0.2-1.8	4	44.4	8	2.0 ± 3.8	0.2-11.3	4	50.0
Rotav./ETEC	4	1.9 ± 2.2	0.2-5.0	3	75.0	3	0.2 ± 0.0	0.2-0.2	0	0.0
Parasitas	2	1.5 ± 0.4	1.3-1.8	2	100.0	-				
Sem agente	33	2.0 ± 2.7	0.2-9.8	25	75.8	19	0.4 ± 0.3	0.2-1.1	6	18.2
Total	**128**	**2.0 ± 2.8**	**0.2-12.0**	**86**	**67.2**	**73**	**0.6 ± 1.4**	**0.2-11.3**	**18**	**24.7**

* doentes em que foi determinado; • doentes com valor ≥ 0.5 mg/dl

3.9.9.1.2. - Antitripsina alfa-1 (Quadro 3.51)

Em 9 (6.7%) doentes o teor de antitripsina alfa-1 foi ≥ 400 mg/dl na fase aguda da diarreia. Na convalescença foi <400 mg/dl em todos os doentes.

Na primeira determinação, embora o número de doentes com antitripsina alfa-1 ≥400 mg/dl, em cada grupo, não fosse influenciado pela etiologia da diarreia, o teor médio foi, significativamente, diferente entre:

- o grupo ***Salmonella*** e os grupos *Rotavirus* (p≤0.005), *Rotavirus*/ETEC (p≤0.05), Sem agente (p≤0.05) ou o conjunto dos outros doentes (p≤0.005).
- o grupo **EPEC** e os grupos *Rotavirus* (p≤0.025) ou Sem agente (p≤0.025).
- o grupo ***Yersinia*** e os grupos *Rotavirus* (p≤0.005), Sem agente (p≤0.005) ou o conjunto dos outros doentes (p≤0.025).
- o grupo **Bactérias invasivas** e os grupos *Rotavirus* (p≤0.05), Sem agente (p≤0.005) ou os outros doentes, em conjunto (p≤0.005).

A subida dos valores de antitripsina alfa-1 na segunda determinação, que ocorreu em 17 (23.9%) doentes, embora mantendo-se dentro de valores normais, foi significativamente mais frequente no grupo ***Rotavirus*** que no grupo Bactérias invasivas ($p \leq 0.05$) ou no conjunto dos outros doentes ($p \leq 0.01$).

Quadro 3.51 - Sangue - antitripsina alfa-1 (mg/dl) e etiologia da diarreia (fase aguda e convalescenca):

etiologia	fase aguda					convalescença				
	nº*	$\bar{x} \pm s$	âmbito	≥400•	%	nº*	$\bar{x} \pm s$	âmbito	nº•	%
Rotavirus	33	230 ± 73	141-469	1	3.0	21	207 ± 40	94-261	10	47.6
Rotavirus c/s	24	219 ± 58	141-339	0	0.0	18	210 ± 39	94-261	7	38.9
Rotavirus s/s	3	265 ± 90	192-392	0	0.0	2	177 ± 60	134-220	1	50.0
EPEC	7	302 ± 92	194-411	2	28.6	2	206 ± 29	185-226	1	50.0
ETEC	6	245 ± 30	208-271	0	0.0	2			0	0.0
EIEC	4	274 ± 7	191-305	0	0.0	2	193 ± 39	165-220	0	0.0
Salmonella	13	329 ± 126	220-663	3	23.1	4	196 ± 33	152-228	0	0.0
Campylobacter	2	260 ± 27	241-279	0	0.0	1	200		0	0.0
Yersinia	3	370 ± 76	228-567	1	33.3	3	233 ± 12	220-244	0	0.0
Shigella	3	252 ± 42	204-280	0	0.0	3	208 ± 41	160-233	0	0.0
Bactérias inv.	24	306 ± 115	201-663	4	16.7	12	206 ± 29	152-244	0	0.0
Rotav/EPEC	8	264 ±4 5	218-353	0	0.0	7	220 ± 20	200-255	1	14.3
Rotav./ETEC	5	245 ±3 7	206-295	0	0.0	3	209 ± 6	205-216	0	0.0
Rotav./bact.inv.	6	239 ±5 0	179-301	0	0.0	2	200 ±0.7	199-200	0	0.0
Parasitas	2	389 ±245	215-562	1	50.0	-				
Sem agente	34	234 ± 66	65-417	1	2.9	18	201 ±4 5	88-261	6	33.3
Total	**135**	**254 ± 86**	**65-663**	**9**	**6.7**	**71**	**205± 35**	**88-261**	**17**	**23.9**

* doentes em que foi feita a determinação; • número e percentagem de doentes com valor > 400 mg/dl; * número de doentes com subida entre as 2 determinações.

3.9.10. - Acidose

Cento e quarenta e seis (53.7%) dos 272 doentes do grupo I tinham acidose metabólica. A sua frequência não foi influenciada pela idade dos doentes, situação nutricional ou importância da perda de peso, mas correlacionava-se, directamente, com os valores séricos de [Cl-] ($p \leq 0.0001$) e, inversamente, com os de [Na^+] ($p \leq 0.005$) e de osmolaridade ($p \leq 0.005$); foi independente dos valores de [K^+], ureia e ácido úrico.

A acidose foi mais frequente nas crianças com infecção urinária ($p \leq 0.05$).

3.9.10.1. - Acidose e etiologia da diarreia (Quadro 3.52)

Apenas a diferença observada na frequência de acidose entre os grupos **EPEC** e Sem agente ($p \leq 0.05$) ou Parasitas ($p \leq 0.05$) foi significativa.

3.10. - URINA

3.10.1. - Osmolaridade (mOsm/l)

O valor médio da osmolaridade da urina, determinado em 108 crianças, 68 (63%) do sexo masculino e 40 (37%) do sexo feminino, com 7.4±6.7 (0.6-51) meses de idade, foi de 478±216 (113-945) mOsm/l. Foi maior nos doentes do sexo masculino ($p \leq 0.05$) e com mais idade ($p \leq 0.05$). Não teve correlação significativa com a importância da perda per-

centual de peso, a positividade da urocultura ou com os valores séricos de osmolaridade e de electrólitos; no entanto, foi significativamente mais elevada em crianças com hiponatremia ($p \leq 0.005$).

Quadro 3.52 - Acidose metabólica e etiologia da diarreia:

etiologia	total	n$^{o(1)}$	%
Rotavirus	56	34	60.7
Rotavirusc/s	41	27	65.9
Rotaviruss/s	9	3	33.3
EPEC	22	17	77.3
ETEC	6	2	33.3
EIEC	5	4	80.0
Salmonella	27	14	51.9
Yersinia	4	2	50.0
Campylobacter	3	2	66.7
Shigella	4	1	25.0
Bactériasinvasivas	53	27	50.9
*Rota./*bact.invas.	16	8	50.0
*Rotav./*EPEC	16	11	68.8
*Rotav./*ETEC	6	3	50.0
Parasitas	7	2	28.6
Semagente	65	30	46.2
População	**272**	**146**	**53.7**

(1) número e percentagem de crianças com acidose.

3.10.1.1. - Osmolaridade e etiologia da diarreia (Quadro 3.53)

Nos vários grupos etiológicos, não foram significativamente diferentes os valores de osmolaridade urinária.

Quadro 3.53 - Osmolaridade urinária (mOsm/l) e etiologia da diarreia:

etiologia	total	osmolaridade	
	n^{o}	$\bar{x} \pm s$	âmbito
Rotavirus	28	508 ± 237	169-945
Rotavirus c/s	19	521 ± 233	169-851
Rotavirus s/s	5	374 ± 228	213-764
EPEC	9	503 ± 259	137-852
ETEC	4	530 ± 259	137-862
EIEC	2	487 ± 81	395-590
Salmonella	12	507 ± 223	206-860
Campylobacter	-		
Yersinia	2	271 ± 109	194-348
Bactérias invasivas	17	482 ± 223	194-860
*Rotav./*bactérias inv.	8	449 ± 236	159-820
*Rotav./*EPEC	6	389 ± 245	113-680
*Rotav./*ETEC	2	399 ± 211	250-548
Parasitas	2	329 ± 128	238-420
Sem agente	22	488 ± 213	154-888
Total	**108**	**478 ± 216**	**113-945**

3.10.2. - Infecção urinária

A urocultura, efectuada no primeiro dia de internamento em todos os doentes, foi positiva em 35 (12.9%), 16 (45.7%) do sexo masculino e 19 (54.3%) do sexo feminino, com 7.2±4.5 (1.3-19) meses de idade. Foram identificados 30 *Escherichia coli*, 4 *Klebsiella*, 1 *Candida albicans* e 1 *Streptococcus ß hemolyticus*.

Apenas 4 (11.4%) não tinham hipertermia e 17 (48.6%) tomaram antibióticos antes do internamento.

Os doentes com infecção urinária tinham mais vezes acidose metabólica ($p \leq 0.05$), neutrofilia ($p \leq 0.05$) e hiperuremia ($p \leq 0.025$).

3.10.2.1. - Infecção urinária e etiologia da diarreia (3.54)

A frequência de infecção urinária não foi influenciada pela etiologia da diarreia. Em 6 crianças com urocultura positiva não foi identificado qualquer agente enteropatogénico.

Quadro 3.54 - Infecção urinária - frequência e etiologia da diarreia:

etiologia	total	infecção urinária	
	nº	nº	%
Rotavirus	56	6	10.7
Rotavirus mais *Salmonella*	9	2	22.2
Rotavirus mais EPEC	16	2	12.5
Rotavirus mais EPEC e *Yersinia* e *Giardia*	1	1	100.0
Rotavirus mais ETEC	6	1	16.7
Rotavirus mais EAEC	2	1	50.0
Salmonella	27	5	18.5
EPEC	22	5	22.7
ETEC	6	2	33.3
EIEC	5	2	40.0
Yersinia	4	1	25.0
Staphylococcus	1	1	100.0
Sem agente	66	6	9.1
População	272	35	12.9

4. - TERAPÊUTICA*

4.1. - ANTIBIÓTICOS ANTES DO INTERNAMENTO (Quadro 4.1)

O uso de antibióticos, antes do internamento, em 91 (33.5%) das 272 crianças, não teve correlação significativa com a idade ou situação nutricional dos doentes, gravidade da desidratação, número de dias de diarreia e de dejecções, características das fezes ou sintomatologia associada. Apenas otite estava mais vezes associada à tomada de antibióticos ($p \leq 0.05$).

* Estes resultados referem-se apenas ao estudo efectuado nas crianças do Grupo I (272 crianças internadas com diarreia aguda).

Quadro 4.1 - Antibióticos tomados pelos doentes antes do internamento:

antibiótico	nº (1)	%
Amoxicilina	21	23.1
Amoxicilina/Cloranfenicol	1	1.1
Amoxicilina/Neomicina/Bacitracina	2	2.2
Amoxicilina/Gentamicina	1	1.1
Amoxicilina/Estreptomicina	1	1.1
Amoxicilina/Estreptomicina/Cotrimoxazol	1	1.1
Ampicilina	10	10.2
Cefalosporina	4	4.4
Cotrimoxazol	17	18.6
Cotrimoxazol/Cloranfenicol	1	1.1
Neomicina/Bacitracina	5	5.5
Neomicina/Bacitracina/Gentamicina	1	1.1
Eritromicina	1	1.1
Acido Nalidixico	1	1.1
Penicilina	4	4.4
Penicilina/Estreptomicina	1	1.1
Estreptomicina	8	8.8
Desconhecido	11	12.1
Total	**91**	**100.0**

(1) nº e percentagem de doentes que tomaram o antibiótico.

4.2. - ANTIBIóTICOS NO INTERNAMENTO (Quadro 4.2)

Oitenta e um (29.8%) dos 272 doentes foram submetidos a antibioterapia.

A prescrição de antibióticos obedeceu aos critérios utilizados no Serviço de Pediatria: crianças malnutridas, recém nascidos ou lactentes no primeiro trimestre de vida, doentes com sinais sugestivos de invasão sistémica ou presença de infecção parenteral. Assim, encontrámos correlação directa entre a frequência do uso de antibióticos e a menor idade dos doentes ($p \leq 0.05$) ou a gravidade do défice nutricional($p \leq 0.05$).

Encontrámos, também, correlação directa entre a frequência da utilização de antibióticos e a gravidade ($p \leq 0.005$) e duração ($p \leq 0.0001$) da desidratação, a presença de acidose ($p \leq 0.005$), a persistência de vómitos (0.005), de hipertermia ($p \leq 0.0001$), de fezes líquidas ($p \leq 0.0001$) com muco ($p \leq 0.05$) ou leucócitos ($p \leq 0.05$), a ocorrência de anemia ($p \leq 0.05$), leucocitose ($p \leq 0.01$) ou neutrofilia ($p \leq 0.01$), e a duração do internamento ($p \leq 0.0001$),.

Todas as crianças com infecção urinária e 22, das 24 com otite, tomaram antibióticos.

Tomaram antibióticos 3 crianças eutróficas, sem otite ou infecção urinária; todas tinham menos de 6 meses de idade, hipertermia e fezes com muco e leucócitos. Numa identificámos *Salmonella*, noutra *Yersinia* e noutra *Rotavirus*.

Não houve correlação significativa entre a tomada de antibióticos antes e durante o internamento.

Quadro 4.2 - Antibióticos no internamento:

antibiótico	nº (1)	%
Amoxicilina	25	9.2
Amoxicilina e Gentamicina	3	1.1
Ampicilina	22	8.1
Ampicilina e Cotrimoxazol	1	0.4
Ampicilina e Gentamicina	10	3.7
Ampicilina e Netromicina	1	0.4
Cefalosporinas	2	0.7
Cotrimoxazol	14	5.1
Gentamicina	3	1.1
Total	**81**	**29.8**

(1) nº e percentagem de doentes que tomaram o antibiótico.

4.3. - FLUIDOTERAPIA INTRAVENOSA

Todos os doentes internados iniciaram fluidoterapia intravenosa que mantiveram até ao desaparecimento dos sinais clínicos de desidratação.

4.4. - PLASMA

A administração de plasma, a 37 (13.6%) das 272 crianças, foi directamente influenciada pela gravidade do défice nutricional ($p \leq 0.005$) e inversamente pela idade dos doentes ($p \leq 0.01$); a sua prescrição correlacionou-se, negativamente, com o nível sérico de osmolaridade ($p \leq 0.005$), uremia ($p \leq 0.0001$), glicemia ($p \leq 0.0001$), proteínas totais ($p \leq 0.05$) e, positivamente, com a gravidade ($p \leq 0.0001$) e duração da desidratação ($p \leq 0.0001$), com a persistência de vómitos ($p \leq 0.025$) ou hipertermia ($p \leq 0.05$), e com a duração da diarreia ($p \leq 0.005$) e a osmolalidade das fezes ($p \leq 0.01$).

4.5. - SANGUE

Duas crianças malnutridas, com anemia grave, leucocitose e neutrofilia, fizeram transfusão de sangue e de plasma.

4.6. - TERAPÊUTICA E ETIOLOGIA DA DIARREIA (Quadro 4.3)

Na maioria dos doentes, a etiologia da diarreia apenas foi conhecida depois de tomadas as atitudes terapêuticas. Porêm, não encontrámos correlação significativa entre a frequência da administração de plasma, sangue ou antibióticos e a etiologia da diarreia.

Quadro 4.3 - Terapêutica no internamento e etiologia da diarreia: número e percentagem dos doentes que tomaram plasma, sangue e antibióticos:

etiologia	total	plasma		sangue		antibióticos	
	nº	nº (1)	%	nº (1)	%	nº (1)	%
Rotavirus	56	7	12.5	0	0.0	19	33.9
Rotavirus c/s	41	3	7.3	0	0.0	15	36.6
Rotavirus s/s	9	2	22.2	0	0.0	2	22.2
EPEC	22	1	4.5	0	0.0	6	27.3
ETEC	6	0	0.0	0	0.0	3	50.0
EIEC	5	1	20.0	2	40.0	1	20.0
Salmonella	27	4	14.8	0	0.0	11	40.7
Yersinia	4	0	0.0	0	0.0	3	75.0
Campylobacter	3	1	33.3	0	0.0	1	33.3
Shigella	4	1	25.0	0	0.0	1	25.0
Bactérias inv.	53	12	22.6	2	3.8	20	37.7
Rotav./bact.inv.	16	0	0.0	0	0.0	5	31.3
Rotav./EPEC	16	3	18.8	0	0.0	4	25.0
Rotav./ETEC	6	1	16.7	0	0.0	2	33.3
Parasitas	7	0	0.0	0	0.0	2	28.6
Sem agente	66	10	15.2	0	0.0	15	27.7
População	272	37	13.6	2	0.7	81	29.8

(1) nº e percentagem de doentes a quem foi ministrada a terapêutica.

5. - TEMPO DE INTERNAMENTO

O tempo médio de internamento, 6.2±6.2 (1-47) dias, maior nos rapazes ($p \leq 0.05$), foi influenciado, inversamente, pela idade dos doentes ($p \leq 0.005$) e nível sérico de proteínas ($p \leq 0.005$) e, directamente, pela gravidade da carência nutricional ($p \leq 0.005$) e perda percentual de peso ($p \leq 0.0001$); teve correlação positiva com o número de leucócitos e neutrófilos do sangue ($p \leq 0.005$).

Não houve correlação significativa entre a duração do internamento e os valores séricos de osmolaridade, $[Na^+]$, $[Cl^-]$, $[K^+]$, albumina, hemoglobina, proteína C reactiva, antitripsina alfa-1 ou presença de acidose.

Tiveram internamento mais longo as crianças de tipo social menos favorecido ($p \leq 0.05$) e as de origem rural ($p \leq 0.05$). O internamento foi mais curto nas crianças de origem urbana ($p \leq 0.025$).

O tempo de internamento foi afectado, directamente, pela duração da diarreia ($p \leq 0.0001$) e maior persistência de muco nas fezes ($p \leq 0.001$), de vómitos ($p \leq 0.0001$) ou de hipertermia ($p \leq 0.0001$).

5.1. - DURAÇÃO DO INTERNAMENTO E ETIOLOGIA DA DIARREIA (Quadro 5.1)

Estiveram menos tempo internadas as crianças com diarreia por ***Rotavirus***, **ETEC** e ***Yersinia***. Porém, apenas os doentes do grupo***Rotavirus*** tiveram duração de internamento

significativamente inferior à dos grupos EPEC ($p \leq 0.025$), *Salmonella* ($p \leq 0.005$), *Campylobacter* ($p \leq 0.05$), *Shigella* ($p \leq 0.05$), Bactérias invasivas ($p \leq 0.01$), *Rotavirus*/ETEC ($p \leq 0.025$), Sem agente ($p \leq 0.025$) ou à do resto da população ($p \leq 0.05$).

No grupo EPEC foi, significativamente, maior ($p \leq 0.05$) para os serogrupos O26 e O111 e menor ($p \leq 0.05$) para o serogrupo O86; no grupo *Salmonella*, foi menor ($p \leq 0.05$) com as estirpes *enteritidis* e *tiphy*.

Quadro 5.1- Duração do internamento e etiologia da diarreia:

etiologia	total	dias de internamento	
	nº	$\bar{x} \pm s$	âmbito
Rotavirus	56	4.6 ± 2.2	2-12
Rotavirus c/s	41	4.4 ± 2.2	2-12
Rotavirus s/s	9	5.0 ± 2.8	2-10
EPEC	22	6.9 ± 5.9	2-26
ETEC	6	4.1 ± 1.9	2 -7
EIEC	5	5.6 ± 4.3	2-13
Salmonella	27	7.6 ± 6.8	2-35
Yersinia enterocolitica	4	4.5 ± 2.6	2 -8
Campylobacter jejuni	3	11.0 ± 12.3	2-25
Shigella	4	7.3 ± 6.6	3-17
Bactérias inv.	53	7.5 ± 6.9	2-35
Rotav./bact.inv.	16	5.1 ± 3.3	2-16
Rotav./EPEC	16	5.4 ± 3.5	2-16
Rotav./ETEC	6	8.3 ± 10.7	3-30
Parasitas	7	4.2 ± 2.3	2 - 7
Sem agente	66	7.5 ± 8.2	2-47
População	272	**6.2 ± 6.2**	**1-47**

IV - DISCUSSÃO

A diarreia aguda, mais frequente e grave em crianças com menos de 5 anos de idade, particularmente nos lactentes,[789] é um importante problema de Saúde Pública, mesmo em países desenvolvidos.[172,198,320,423,499,530,537,568,750,825] Apenas as infecções respiratórias causam maior morbilidade infantil.[198,537,825] Mas é nos países em desenvolvimento, e em populações vivendo em más condições socioeconómicas, que a diarreia assume maior importância sanitária. A OMS calcula que, anualmente, cerca de mil milhões de episódios de diarreia aguda causam a morte de 4 a 5 milhões de crianças de países em desenvolvimento.[750] Nas zonas com taxa de mortalidade infantil superior a 100, 1/3 das mortes é causado por diarreia.[574]

Na população infantil do nosso País, a diarreia aguda constitui causa importante de morbilidade e mortalidade (Quadros 1 e 2). No Serviço de Pediatria do H.S.João, no Porto, é responsável por cerca de 14% dos internamentos e, embora com responsabilidade cada vez menor, contribui ainda de forma significativa, para as taxas elevadas da mortalidade infantil no nosso País.

Quadro 1 - Doentes internados (total e por "diarreia aguda" no Serviço de Pediatria - Hospital de S. João - Porto):

ano	total	diarreia aguda	
	n.º	n.º	%
1979	2532	222	8.8
1980	2527	296	11.7
1982	2449	320	13.0
1983	2583	372	14.4

Quadro 2 - Mortalidade em Portugal - total e por "enterite":

idades	≤ 12 meses			1-4 anos		
	total	enterite		total	enterite	
ano	nº	nº	%	nº	nº	%
1974	6517	712	10.9	1357	86	6.3
1979	4172	402	9.6	921	51	5.5
1981	3056	249	8.1	701	18	2.5
1983	2595	162	6.2	609	16	2.6

Fonte: INE - Estatística de Saúde.

Durante muito tempo a diarreia aguda foi principalmente atribuída a causas alimentares[504] mas, actualmente, a infecção intestinal é na maioria dos casos reconhecida como responsável etiológica. Nos últimos anos houve ganhos importantes no entendimento da diarreia aguda, particularmente com a responsabilização etiológica, caracterização epidemiológica e desenvolvimento de técnicas de identificação dos mecanismos patogénicos de alguns vírus e bactérias.[51,97,416,682] De facto, presentemente, a utilização de meios de cultura diversificados, de culturas celulares, de novos métodos imunobiológicos e de microscopia electrónica, permitem afirmar a etiologia infecciosa da diarreia aguda num número crescente de casos.

Se para a prevenção e tratamento da diarreia aguda é fundamental o conhecimento das suas causas e das alterações clínicas próprias de cada etiologia, na década de 70, somente em 20-30% dos doentes era possível demonstrar a responsabilidade de agentes microbianos.[630,891] Actualmente, com a utilização de novas técnicas de investigação, é possível identificar o agente causal em 60 a 70% dos doentes. Embora com variações de incidência, dependentes de condições climáticas e socioeconómicas, os agentes infecciosos causadores de diarreia são os mesmos em todo o mundo (Quadro 3).[428]

Quadro 3 - Frequência dos agentes enteropatogénicos na etiologia da diarreia aguda:

	Rotavirus	EPEC	ETEC	EIEC	*Salm.*	*Campyl.*	*Yersin.*	*Shigella*
Espanha (835)	21.0	np	np	np	10.2	7.3	0.2	5.4
França (304)	30.0	np	np	np	4.0	1.0	0.5	1.0
Itália (115)	26.3	np	np	np	26.3	5.1	1.7	0.9
Suécia (612)	58.4	2.0	np	np	1.0	6.0	2.0	0.0
Israel (369)	17.0	3.0	np	np	5.9	np	np	28.0
U.S.A. (619)	20.0	np	4.0	0.4	4.0	np	np	25.0
México (619)	17.0	np	7.0	1.0	12.0	np	np	14.0
Trindade (356)	17.0	14.3	4.3	np	12.0	np	np	14.0
Brasil (313)	19.0	4.6	21.0	np	1.0	7.5	2.0	8.0
Zaire (542)	30.6	4.4	10.3	np	2.6	24.0	0.1	1.5
Etiópia (804)	51.8	19.9	9.6	np	6.0	13.3	np	1.8
Singapura (837)	45.2	6.1	1.4	0.4	1.4	2.5	0.2	8.1
Austrália (1)	16.0	np	np	np	14.0	4.3	3.9	0.0

np - não pesquisado; ( ) referência bibliográfica.

No Serviço de Pediatria do H.S.João, no Porto, num estudo realizado em 1982/1983, em que apenas foram pesquisadas algumas bactérias (*Salmonella* e *Shigella*) e parasitas, só em 19.5% das crianças com diarreia aguda foi identificado qualquer destes agentes.[8]

Neste trabalho, propusemo-nos avaliar a importância epidemiológica de diversos agentes enteropatogénicos na diarreia aguda das crianças do Norte de Portugal, tratadas no Serviço de Pediatria do Hospital de S. João, no Porto. A outros agentes, que não pesquisámos, vem sendo atribuída responsabilidade etiológica na diarreia aguda infantil. Mas a importância de alguns é ainda controversa e, a de outros, só foi bem estabelecida com este trabalho já em curso. Por que se impunha gerir as disponibilidades técnicas, financeiras e de tempo, apenas investigámos os agentes microbianos de presumível maior prevalência e com mais bem definida associação com a diarreia aguda. As mesmas razões obrigaram a limitar o número de crianças que constituiram o grupo de doentes com diarreia tratada em consulta externa e do grupo de crianças assintomáticas.

Por dificuldade do processamento laboratorial das amostras fecais, apenas estudámos as crianças com diarreia aguda observadas de 2ª a 5ª feira. O estudo microbiológico foi efectuado em todas as crianças. Todo o outro estudo, clínico e analítico, apenas foi concretizado em crianças que necessitaram de internamento.

Considerámos como diarreia aguda a modificação súbita do aspecto habitual das fezes, que se tornaram mais abundantes, líquidas ou pastosas e em maior número de dejecções, com evolução igual ou inferior a 15 dias.

1. ETIOLOGIA

É actualmente aceite que a maioria das diarreias são causadas por vírus, bactérias ou parasitas. Porém, a identificação destes agentes nas fezes nem sempre permite incriminá-los.[118] É bem conhecida a eliminação fecal de agentes enteropatogénicos por crianças sem qualquer sintomatologia intestinal.[72,853] Também as análises bacterianas, habitualmente qualitativas e utilizando meios selectivos, permitem a identificação de bactérias que poderão existir em número insuficiente para provocar doença;[157] é disso exemplo o isolamento frequente de *Staphylococcus aureus* nas fezes de crianças saudáveis.[191] E, para estirpes bacterianas toxigénicas, é mais importante demonstrar a presença da toxina que identificar a bactéria.[191]

No nosso estudo, o exame microbiológico das fezes das crianças (grupos I, II e III), com o recurso às técnicas mais recentes, algumas delas montadas para esse efeito pela primeira vez no nosso País, permitiu identificar os seguintes agentes enteropatogénicos: ***Salmonella*** sp., ***Shigella*** sp., ***Campylobacter jejuni***, ***Yersinia enterocolitica***, ***Staphylococcus aureus***, ***Candida albicans***, ***Escherichia coli*** enteropatogénico (EPEC), ***Escherichia coli*** enterotoxigénico (ETEC), ***Escherichia coli*** enteroinvasivo (EIEC), ***Escherichia coli*** enteroaderente (EAEC), ***Rotavirus***, ***Adenovirus*** e Parasitas (***Giardia lamblia***, ***Trichiura trichiuris*** e ***Ascaris lumbricoides***).

Se a identificação nas fezes de agentes enteropatogénicos não basta para os responsabilizar pela diarreia, o mesmo não acontecerá quando é conhecida a ausência, ou raridade, da sua ocorrência na população assintomática.[489] Assim, e de acordo com os resultados por nós obtidos, podemos responsabilizar pela etiologia da diarreia *Salmonella*, *Campylozbacter jejuni*, *Shigella*, *Yersinia enterocolitica*, ETEC e EIEC nos doentes em que foram isoladas: apenas uma criança do grupo III (crianças assintomáticas) eliminava *Sal-*

monella. A frequência de identificação de *Rotavirus*, EPEC e parasitas em crianças assintomáticas, obriga a questionar a sua importância etiológica nas crianças com diarreia aguda.

Somente em 24.3% dos doentes internados (**grupo I**) e em 45% dos doentes em regime ambulatório (**grupo II**) não foi identificado qualquer agente enteropatogénico. Nas crianças assintomáticas do **grupo III** (grupo controlo), identificámos *Rotavirus*, em 13.3%, EPEC em 10.0%, *Salmonella sp.* em 1.7% e parasitas em 8.3%.

Rotavirus foi o agente mais vezes identificado nas fezes dos doentes com diarreia que careceram de internamento (40.1%) ou tratados em regime ambulatório (26.7%), frequência sobreponível à de outras partes do mundo.[26,117,441,634,721,788,853] Como outros autores,[82,101] encontrámos maior prevalência de *Rotavirus* nos doentes internados.

É relevante salientar a eliminação fecal de *Rotavirus* em crianças assintomáticas, facto que ocorreu em 13.3% das crianças do grupo testemunha (grupo III) e em 24% dos recém nascidos sem diarreia. Contudo, na literatura internacional, têm sido referidos resultados contraditórios: raridade, ou não observação, em alguns estudos,[21,26,160,356,419,441,501,542,709,788,-789] e ocorrência em percentagens não muito diferentes das que encontrámos.[37,49,82,91,115,117,-118,133,160,180,206,221,320,313,337,407,440,475,477,610,619,628,659,721,730,751,768,835,853,865,882,889] A diversidade dos resultados poderá traduzir apenas diferenças imunitárias entre os indivíduos ou do perfil epidemiológico utilizado.

Neste trabalho, a pesquisa de *Rotavirus* foi efectuada por microscopia electrónica (ME), por métodos imunoenzimáticos (ELISA) e pelo teste de aglutinação de latex (LTX), conforme descrito em Material e Métodos.

A **ME** tem sido indicada como o método de referência para a pesquisa de *Rotavirus*.[300] Embora este método permita a visualização de outros agentes virais, como aconteceu em três dos nossos doentes em que revelou a presença de *Adenovirus*, é pouco acessível à maioria dos laboratórios pois é caro, moroso, e requere pessoal e apetrechamento diferenciados. A ME apresenta, adicionalmente, outras limitações: apenas permite a visualização de partículas víricas intactas[324,890] e a obtenção de resultados positivos depende da experiência do observador e da concentração e pureza da amostra.[670]

Nas 159 amostras de fezes de doentes do grupo I, processadas para ME (coloração negativa) após centrifugação a 1400 ou 4000 G/ 30 minutos, visualizámos *Rotavirus* em 57. Adicionalmente, com recurso a técnicas de ultracentrifugação, foi possível visualizar *Rotavirus* em mais 6 amostras, facto que realça a importância da preparação das fezes na maximização dos resultados positivos.[670]

O método **ELISA**, comparado com a ME, é de execução mais fácil, mais rápida e permite estudar, simultaneamente, um grande número de amostras de fezes. Com esta técnica verificámos a presença de *Rotavirus* em 146 crianças. Mas a complementarização deste método nas amostras positivas com um teste de neutralização ("blocking test"), permitiu-nos, à semelhança do referido por outros autores,[27,81,639,670] identificar 13 resultados falsos positivos e caracterizar os resultados de interpretação duvidosa.

O método de aglutinação pelo Latex (**LTX**), já usado com eficácia na identificação de antigénios bacterianos,[444,722] foi adaptado à pesquisa de *Rotavirus* e revelou-se bastante específico e sensível.[27,324,597,694,698] Como outros autores,[547] não obtivemos por este método qualquer resultado positivo que o não fosse, concomitantemente, por ME ou por ELISA, nem falsos positivos, em consequência de aglutinação inespecífica.[324] Relativamente à

sensibilidade, encontrámos concordância elevada (96.5%) com a ME e ELISA, considerados individualmente.[6]

Nos doentes em que apenas identificámos *Adenovirus*, o teste LTX foi sempre negativo, o que demonstra a sua especificidade. Contudo, é menos sensível que o método ELISA para menores concentrações de antigénio,[887] desvantagem pouco importante na fase aguda da doença, em que a concentração de *Rotavius* é, geralmente, elevada.

O método LTX, por que não implica qualquer tipo de aparelhagem, não é dispendioso, é de execução fácil e rápida e pode ser efectuado na enfermaria, está indicado no rastreio da gastroenterite por *Rotavirus*.[6,324]

As 3 técnicas, ME, ELISA e LTX, foram simultaneamente efectuadas em 91 doentes, o que tornou possível o seu estudo comparativo. Em 6, das 91 amostras de fezes estudadas pelo LTX (Rotalex®), o facto de se ter verificado aglutinação com o soro testemunha tornou o resultado inconclusivo. Esta limitação da técnica, igualmente referida por outros autores,[324] pode ser ultrapassada pela repetição da análise em nova amostra de fezes ou, se persistir ininterpretável, com recurso a outro método. Assim, a apreciação comparativa das 3 técnicas é referida apenas às 85 amostras restantes.

Os resultados obtidos foram concordantes em 80 (94.1%) das 85 amostras de fezes: 50 positivos e 30 negativos. Em 4 doentes, houve apenas concordância entre dois métodos: 2 amostras positivas por LTX e ELISA, 1 por ME e ELISA e 1 por LTX e ME. Em 1 doente, a pesquisa de *Rotavirus* só foi positiva por ELISA.

Em todos os casos em que não houve concordância entre os 3 métodos, verificámos subida do título sérico de anticorpos antirrotavírus, o que sugere a responsabilidade do *Rotavirus* na etiologia da diarreia.

A negatividade da ME em 2 amostras (positivas por LTX e ELISA), poderá atribuir-se à inexistência, nas fezes, de partículas virais intactas e à presença de fragmentos antigénicos detectáveis pelas técnicas imunológicas.[324,851,890]

A negatividade do teste LTX em 1 amostra (positiva por ME e ELISA), dada a sua menor sensibilidade,[887] poder-se-á explicar pela eventual menor concentração de partículas virais.

A positividade de 1 amostra por ELISA (negativa por ME e LTX) poder-se-á atribuir à ausência de partículas virais intactas[324,890] e a baixo teor de antigénios virais.[887]

Embora a ME seja considerada o método mais específico,[300] os nossos resultados, concordantes com os de outros autores,[9,39,42,48,81,219,324,327,705,837,853] mostram que a técnica ELISA é mais sensível. De facto, os resultados foram concordantes em 155 (97.5%) das 159 amostras de fezes estudadas, simultaneamente, pelos 2 métodos. Nos outros 4 doentes, em 3 a pesquisa de *Rotavirus* foi positiva apenas por ELISA e em 1 apenas por ME. A positividade de ELISA nos 3 doentes poder-se-á atribuir ao facto de a ME só permitir visualizar partículas víricas intactas,[890] enquanto as técnicas imunológicas possibilitam a identificação de fragmentos antigénicos.[851] No doente com pesquisa positiva apenas por ME, a negatividade do teste ELISA poder-se-á atribuir à presença de taxas elevadas de coproanticorpos específicos que, revestindo as partículas virais, impediriam a positividade dos testes imunológicos,[300] hipótese apoiada no facto deste doente ter, em duas determinações, teor sérico elevado de anticorpos antirrotavírus (≥ 256). Não excluímos, no entanto, a possibilidade das partículas víricas, com morfologia de *Rotavirus*, serem antigenicamente distintas dos *Rotavirus* convencionais.[851]

Perante a elevada concordância de ME e ELISA, e por razões técnicas, em alguns doentes só utilizámos o método ELISA na pesquisa de *Rotavirus*.

Tem sido afirmado que a presença de *Rotavirus* nas fezes de crianças com diarreia aguda permite atribuir-lhe, sempre, a causa da diarreia.[26,136,160,206,265,337,356,419,501,542,619,709,721,-768,788] No entanto, os nossos resultados não permitem idêntica conclusão; em 48.6% dos doentes em que o identificámos, apareceu associado a outros agentes enteropatogénicos e foi também por nós encontrado nas fezes de 13.3% das crianças sem doença e de 24% dos recém nascidos assintomáticos, factos que dificultam a sua responsabilização etiológica.[11,49,117,118,133,138,221,475,556,751,768,815,853,889] A frequente eliminação assintomática de *Rotavirus*, particularmente por recém nascidos, confirma resultados doutros autores[49,50,92,133,-134,475,556] Segundo Kaplan,[389] só deve ser atribuída importância etiológica à existência de *Rotavirus* nas fezes quando há resposta imunológica correspondente do hospedeiro. No nosso estudo, doseámos em 165 doentes, por fixação de complemento, o teor sérico de anticorpos antirrotavírus, no dia de internamento e cerca de 3 semanas depois. Verificámos seroconversão do título de anticorpos em 71 (74%) de 96 crianças com *Rotavirus* nas fezes, frequência semelhante à obtida por outros autores.[117,118,418,420,659,837,853] Só nestes doentes, com segurança, poderemos responsabilizar *Rotavirus* como causa da diarreia.[56,-418,420,837] Nos 25 com seroconversão negativa não é evidente o significado etiológico da presença de *Rotavirus*. Usámos, no entanto, a fixação de complemento no doseamento dos anticorpos antirrotavírus, técnica menos sensível que o ELISA, e que poderá dar alguns resultados falso negativos.[56,278,419,884] Salientamos que quando o *Rotavirus* foi o único agente identificado (80,4%) a frequência da seroconversão foi maior do que quando ocorreu associado a outros agentes (66.7%)

A subida significativa do título sérico de anticorpos antirrotavírus, que ocorreu em 8 (11.6%) das crianças sem *Rotavirus* nas fezes, facto também observado noutros estudos,[136,322,380] poder-se-á atribuir ao assincronismo entre o tempo de resposta imunológica sérica, habitualmente cerca de 2 semanas após o início da infecção,[382] e a duração da eliminação do *Rotavirus* nas fezes, quase sempre inferior a 1 semana. De facto, estes doentes foram internados, em média, 4.5 dias após o início da diarreia. Quatro deles tinham na primeira determinação título sérico de anticorpos antirrotavírus doseável.

A concentração de *Rotavirus* nas fezes é máxima logo após o início da doença e declina gradualmente, raramente persistindo para além de uma semana[155,160,839] e, muito excepcionalmente, para lá das 3 semanas.[419] Isto foi por nós verificado em 42 crianças: a segunda pesquisa de *Rotavirus*, uma semana após o início da doença, foi positiva apenas numa, e nesta também negativa duas semana mais tarde.

Determinámos, também, a presença de anticorpos antirrotavírus séricos em 241 crianças assintomáticos, de vários grupos etários. Tinham anticorpos, 83.3% dos recém nascidos, 36% das crianças com 5/6 meses e 69% das crianças com idade igual ou superior a 24 meses. Estes resultados são sobreponíveis aos referidos noutros estudos,[63,119,382,471,542,593] embora a frequência de anticorpos após os 2 anos de vida seja inferior à obtida num inquérito serológico nacional (82.8%).[29] A elevada percentagem de recém nascidos com anticorpos antirrotavírus traduz, possivelmente, a aquisição transplacentária de anticorpos maternos.[418] A pesquisa de anticorpos séricos antirrotavírus, que efectuámos em 25 pares recém nascido/mãe e foi positiva em todos os recém nascidos de mães imunizadas (80%), confirma esta hipótese. O teor de anticorpos adquiridos passivamente declina até aos 6 meses de vida, provavelmente por inactivação; a sua subida, após esta idade, traduz a participação activa da criança na elaboração de anticorpos em resposta à infecção por *Rotavirus*.[418] Estes dados, colhidos numa amostra selecionada, embora não possam generalizar-se à totalidade da população, proporcionam uma visão do que poderá ser a prevalência

de anticorpos antirrotavírus nas crianças da nossa área e mostram que a infecção por *Rotavirus* é frequente e ocorre precocemente.

Contudo, a imunidade sérica adquirida, passiva ou activa, não previne a replicação vírica no intestino. Têm sido observadas infecções intestinais recorrentes, por *Rotavirus*, no Homem.[49,136,160,260,278,644,661,707,889] Nos doentes que estudámos com seroconversão do título de anticorpos antirrotavírus, 38% tinham anticorpos doseáveis quando foram internados, achado sobreponível ao de outros autores.[49,117,136,381,382] Este facto poderá traduzir que a doença ocorreu por infecção com diferentes serotipos ou subgrupos de *Rotavirus*,[49,260,278,661,707,889] ineficácia da protecção dos anticorpos séricos[117,278,383,674,712] ou que a resistência à doença estaria mais claramente associada ao nível de anticorpos específicos da mucosa intestinal.[61,385,398]

Estudámos, também, a presença de *Rotavirus* em familiares (25 adultos e 8 crianças) de crianças com *Rotavirus* nas fezes. A pesquisa foi positiva em 2 crianças, com 4 e 6 anos de idade e sem diarreia, e em 2 adultos, com 62 e 83 anos de idade, ambos com diarreia aguda e sem outro agente infeccioso identificado nas fezes. Os nossos resultados, concordantes com os de outros estudos,[4-10] embora obtidos num pequeno número de casos, não permitem confirmar a facilidade de infecção de adultos com *Rotavirus* quando em contacto com crianças doentes.[152,155,263,306,382,386,388,410,662,821,843,859,895] No entanto, parecem traduzir maior susceptibilidade à infecção na velhice.[155]

A **electroforese do RNA** de *Rotavirus* permite caracterizar algumas dezenas de padrões electroforéticos,[757] traduzindo a grande heterogeneidade genética das várias estirpes mas não, necessariamente, diferentes propriedades antigénicas ou biológicas.[199-227,353,376,417,468,576,653,676,711,757] De facto, em *Rotavirus* isolados no Homem, apenas foram identificados 4 serotipos.[353,468,653,671]

No nosso estudo, em 33 doentes, encontrámos 11 perfís electroforéticos distintos, facto bem demonstrativo da grande heterogeneidade genética das estirpes de *Rotavirus* das crianças da nossa área, maior que a observada na zona de Lisboa.[469]

Vários electroforetipos têm sido encontrados, simultaneamente, na mesma área, embora com predomínio de alguns.[227,258,417,576,653,711,757,823,889] Em crianças de áreas urbanas e rurais verificámos grande heterogeneidade nos tipos elecrotroforéticos, com predomínio do electroforetipo Ib IIb IIIg IVa nas crianças de áreas urbanas e do Ib IIa IIIa IVb, nas de áreas rurais. Curiosamente, em crianças de áreas degradadas, apenas encontrámos o electroforetipo Ic IIb IIIg IVa.

A partir da velocidade de migração dos segmentos 10 e 11, é possível individualizar padrões electroforéticos longos, correspondendo ao subgrupo II e serotipo 1, e curtos, correspondendo ao subgrupo I e serotipo 2.[259,353,374,653,806,862] Nas nossas estirpes de *Rotavirus*, como noutros países,[137,259,558,862,889] predominou o serotipo 1. No entanto, enquanto que em crianças da área de Lisboa[469] apenas foi identificado o serotipo 1, em 8 (24.2%) dos nossos doentes as estirpes de *Rotavirus* eram do serotipo 2.

Um dos electroforetipos, numa criança com 3.3 meses de idade e com seroconversão do título de anticorpos antirrotavírus, tinha 13 bandas, achado raramente referido por outros autores,[183,468,757] e que poderá corresponder à infecção simultânea por diferentes estirpes de *Rotavirus*[215,353,468,653,676,757,758] ou à infecção por nova estirpe resultante de recombinação genética espontânea.[183,417,676]

Encontrámos seroconversão do título de anticorpos antirrotavírus em 21 (75%) dos 28 doentes em que caracterizámos o elecroforetipo. De salientar que o *Rotavirus*, nos 7 doen-

tes sem seroconversão, pertencia apenas a 3 tipos electroforéticos: 2 (40%) IbIIaIIIbIVb, 1 (33.3%) IcIIaIIIcIVb e 4 (50%) IcIIbIIIgIVa.

A electroforese do RNA de *Rotavirus* em gel de poliacrialmida, método que usámos neste estudo, é uma técnica de execução simples, rápida, e permite estudar, simultaneamente, várias amostras de fezes.[469,575]

Escherichia coli constitui a espécie anaeróbia facultativa predominante no intestino humano. No entanto, diversas estirpes de *Escherichia coli*, pertencentes a diferentes serotipos O:H, têm sido responsabilizadas como causa de diarreia.

Reconhecem-se, hoje, 5 grupos distintos de *Escherichia coli* causadores de diarreia: 1 - *Escherichia coli* enteropatogénicos (EPEC); 2 - *Escherichia coli* enterotoxígenos (ETEC); 3 - *Escherichia coli* enteroinvasores (EIEC); 4 - *Escherichia coli* enteroaderentes (EAEC); 5 - *Escherichia coli* enterohemorrágicos (EHEC). Dentro de cada grupo, as estirpes de *Escherichia coli* pertencem, predominantemente, a determinados serotipos O:H.[454]

No nosso estudo, *Escherichia coli* foi o agente bacteriano mais vezes identificado nas fezes, com predomínio de estirpes EPEC. O isolamento de estirpes ETEC, EIEC e EAEC foi menos frequente. Por não nos ser possível dispor de soros anti-EHEC, não pesquisámos estirpes EHEC. Em 28.7% dos doentes do grupo I, em 15% dos doentes do grupo II e em 10% das crianças do grupo III, isolámos estirpes patogénicas de *Escherichia coli*.

Por que não se conheciam os mecanismos patogénicos das estirpes **EPEC** clássicas, que não revelavam elaboração de toxinas, ST ou LT, ou capacidade invasiva, foi posta em causa a sua importância na etiologia da diarreia,[104,267,356,451] apesar de algumas observações epidemiológicas a sugerirem e a virulência de algumas estirpes ter sido demonstrada, experimentalmente, em animais e no Homem.[210,421] Inicialmente, a pesquisa destas estirpes baseou-se na caracterização dos antigénios somáticos (O) e dos antigénios capsulares (K) do seu mosaico antigénico. Contudo, foi demonstrado por Orskov *et al.*[591] que os antigénios K eram apenas uma região termossensível do antigénio O devendo, por isso, o serotipo das estirpes EPEC ser avaliado apenas pela caracterização dos antigénios O e H (sistema O:H). De facto, dentro do mesmo grupo, foi possível obter diferentes serotipos O:H[589] dos quais, apenas alguns, eram patogénicos enterais.[239] Infelizmente, os imunossoros disponíveis, no comércio, para a caracterização das estirpes EPEC ainda utilizam o sistema O:K. No entanto, algumas das nossas estirpes eram imóveis pelo que podem ser reclassificadas como pertencentes aos principais serotipos O:H associados com diarreia infantil.[648]

Em 20.6% dos doentes internados (grupo I), em 13.3% dos doentes tratados em regime ambulatório (grupo II) e em 10% das crianças assintomáticas (grupo III) foram identificadas, a partir das fezes, estirpes de EPEC. Estes valores são superiores aos referidos por autores de diversos países[4,313,356,487,538,542,555,612,619,718,769] mas são muito semelhantes aos obtidos em alguns países em desenvolvimento.[406,429,487,555,619,638,682,718,759,769]

A presença de estirpes EPEC em crianças assintomáticas (10%), também referida noutros estudos,[356,542] foi significativamente inferior à observada em crianças com diarreia, facto que sugere a sua importância etiológica.

Independentemente da idade, origem geográfica ou social dos doentes, encontrámos predomínio dos serogrupos O26, O55, O111, O119, O125 e O127 e menor frequência dos serogrupos O20, O112 e O128, resultados que não diferem, significativamente, do observado noutros países.[239,791] Os serotipos de EPEC não influenciaram a frequência de associação de estirpes EPEC com outros agentes etiológicos, observada em 37 (57.8%)

dos 64 doentes, nem quando associados a *Rotavirus*, influenciaram a frequência de seroconversão do título de anticorpos antirrotavírus.

Como anteriormente salientámos, não se conheciam os mecanismos patogénicos das estirpes EPEC clássicas. Entretanto, Polotsky *et al.*[625] evidenciaram, por ME, lesões histopatológicas na mucosa intestinal humana diferentes das provocadas por outras populações de *Escherichia coli*.[31,105,143,210,451,546,625,638,665,666] que consideraram patognomónicas da infecção por EPEC. Estas lesões traduziam um mecanismo patogénico próprio, denominado enteroaderência, demonstrável, in vitro, com culturas celulares HEp-2,[31,138,143,208,210,511,625,665,791] e observado, mais vezes em estirpes EPEC dos serogrupos O26, O55, O111, O114, O125, O127 e O142 e, raramente, em estirpes EPEC dos serogrupos O44, O86 e O112.[143,452,565] Embora demonstrado por Cravioto *et al.*[143] em 80% de estirpes EPEC, e não noutras populações de *Escherichia coli*, é referido, noutros estudos, em percentagens inferiores (10%).[31,452] A enteroaderência, mediada por plasmídeos, é manose resistente e poderá estar associada a um factor de aderência (EAF) não piliado.[31] Trabalhos recentes[710] mostraram que as estirpes EPEC clássicas poderão não exibir, in vitro, aderência a células HEp-2 ou HeLa ou que a aderência, quando ocorre, pode ser localizada ou difusa.

A fim de esclarecer os mecanismos patogénicos das estirpes EPEC, averiguámos, recorrendo a técnicas apropriadas, se elaboravam toxinas LT ou ST, se aderiam a células HEp-2 ou se exibiam propriedades invasivas.

Em nenhuma das estirpes EPEC demonstrámos produção de enterotoxinas e somente uma estirpe O28 revelou capacidade invasiva. É curioso salientar que esta estirpe, que classificámos pelo sistema O:K como estirpe EPEC, é presentemente motivo de controvérsia, sugerindo alguns autores a sua transferência para o grupo EIEC.[211,234,648]

Cinco (7.8%), das 64 estirpes EPEC isoladas de crianças com diarreia aguda, exibiram aderência, in vitro, a células HEp-2. Esta percentagem, muito inferior à referida por Cravioto *et al.*,[143] é semelhante á obtida por outros autores.[31,452] As 5 estirpes EPEC enteroaderentes pertenciam a serogrupos (O111 e O26) em que mais frequentemente tem sido demonstrada a enteroaderência.[138,177,452,565,665,828] Porém, a enteroaderência não é um mecanismo específico das estirpes EPEC pois, como outros autores,[143,191,431,509] observámo-la em 2 estirpes de *Escherichia coli* não EPEC, sem mecanismo patogénico identificado. É possível que as estirpes enteroaderentes (**EAEC**) constituam um grupo individualizado de *Escherichia coli* patogénicos, independente dos serotipos.[297,385,452,508,510,511]

Embora não tenhámos demonstrado qualquer mecanismo enteropatogénico conhecido na maioria das estirpes EPEC, é de realçar terem sido significativamente mais vezes isoladas nas crianças com diarreia do que nas crianças assintomáticas. Além disso, não estavam associadas a outro agente enteropatogénico em cerca de 50% dos doentes com diarreia aguda em que foram identificadas e os serogrupos O20aO20c, O86, O111, O112aO112c, O125, O126 e O128 não foram observados em crianças assintomáticas.

Estes resultados levam-nos a admitir, apesar da ausência de mecanismos patogénicos conhecidos, a responsabilidade de algumas das estirpes EPEC na etiologia da diarreia aguda das nossas crianças. Seria interessante confirmar, experimentalmente, em voluntários humanos, esta hipótese. Entretanto, julgámos necessário aguardar resultados de novos estudos epidemiológicos e o melhor entendimento dos eventuais mecanismos de acção das estirpes EPEC para esclarecer a sua importância.

Numerosas estirpes de ***Escherichia coli***, denominadas enteroxígenas (**ETEC**), causam diarreia aguda através da elaboração de toxinas LT e/ou ST.[235,682,687] Frequentemente

responsáveis pela diarreia aguda das crianças em países em desenvolvimento[59,95,167,186,206,208,235,265,296,313,407,482,536,542,673,712,752,759,769,844] e pela diarreia dos viajantes,[689] são menos vezes associadas à etiologia da diarreia em países industrializados.[280,482,487,582,619,663,688,768]

A análise sistemática das estirpes de *Escherichia coli* quanto à elaboração de toxinas, mostrou a pouca importância das estirpes ETEC na etiologia da diarreia aguda das crianças do Norte de Portugal. Somente fezes diarreicas de 13 (4.8%) crianças internadas, e de 1 (1.7%) criança em regime ambulatório, revelaram a presença de estirpes ETEC, números muito inferiores aos observados em países em desenvolvimento[235,482,501,542,636,769,844] mas próximos dos referidos em países industrializados.[106,280,487,619,663,688,768]

Ao contrário do referido em alguns estudos,[186,206,265,636,769] nós, como outros autores,[337,619,636,768] em nenhuma das crianças assintomáticas identificámos estirpes ETEC.

Das 14 estirpes ETEC, 13 eram do tipo LT^+/ST^- e a outra do tipo LT^-/ST^+. O predomínio de estirpes LT^+/ST^-, também observado noutros estudos,[769] a raridade de estirpes LT^-/ST^+ e a ausência de estirpes LT^+/ST^+, sugerem grande diversidade geográfica na incidência dos vários tipos de ETEC. De facto, noutros países, foram identificadas com a mesma frequência,[59,235] ou predominaram estirpes LT^+/ST^+ ou LT^-/ST^+.[186,208,232,265,501,528,619,636,768,769,867]

É geralmente aceite que os pili ou fímbrias funcionam como estruturas de virulência, promovendo a interacção parasita-hospedeiro. Factores de colonização **CFA I** e **CFA II** têm sido associados às estirpes ETEC isoladas no Homem.[104,196,231,233,236,415,557,565,611] Com recurso à ME e a ensaios de hemaglutinação, pesquisámos a presença de factores de colonização CFA I e CFA II nos 272 doentes do grupo I. A pesquisa foi positiva em 18 (6.6%) estirpes: 3 (25%) das 12 estirpes ETEC LT^+, 3 (5.4%) das 56 estirpes EPEC e 11 (5.7%) das 194 sem mecanismo patogénico conhecido, exibiam pili CFA I; apenas em 1 (0.5%) estirpe de *Escherichia coli*, em que não identificámos mecanismo patogénico, observámos pili CFA II. A frequência da presença de CFA em estirpes ETEC é inferior à obtida por outros autores.[196] A observação de CFA I em estirpes de *Escherichia coli* sem mecanismo patogénico conhecido, confirma resultados de outros estudos.[540,769] Estes dados, embora obtidos num pequeno número de amostras, sugerem a pouca importância dos factores de colonização CFA na virulência das estirpes ETEC.

Alguns autores, referem diarreia mais grave com estirpes possuidoras de CFA,[769] observação que não confirmámos.

O facto de estirpes EPEC geralmente não exibirem factores de colonização CFA,[143] e de células fimbriadas de *Escherichia coli* não patogénicos aderirem ao epitélio do intestino delgado,[845] evidencia a complexidade do problema. É provável que os pili CFA, bem como os pili 1, possam desempenhar papel importante na manutenção do ecossistema entérico.[234] Admitimos, no entanto, que outros tipos de adesinas promovam, nas nossas estirpes ETEC, a aderência ao epitélio do intestino delgado e lhes permitam resistir ao efeito mecânico dos movimentos peristálticos.[611]

As estirpes de *Escherichia coli* enteroinvasivas (**EIEC**) são distintas das estirpes EPEC e ETEC: invadem e proliferam no interior dos enterócitos e causam a morte celular por mecanismo semelhante ao da *Shigella*.[104,194,731] Somente foram identificadas em 2.2% das crianças com diarreia tratadas em internamento e em 1.7% das tratadas em regime ambulatório. Esta baixa incidência é sobreponível à de outros estudos.[4,170,268,235,373,487,619,718]

As estirpes ETEC e EIEC tem sido mais vezes observadas em alguns serotipos de *Escherichia coli*,[60,143,234,238,528,590,592] propondo alguns autores o seu rastreio com antissoros

polivalentes, dispensando o recurso à complexa metodologia de identificação de enterotoxinas e de capacidade invasiva.[529] Não nos foi possível, por falta de imunossoros, avaliar os serotipos O:H das estirpes ETEC e EIEC. Esta limitação, que também engloba a identificação das estirpes EHEC,[234,395,412,581,582] mostra a necessidade urgente de criação, no nosso País, de um centro especializado na serotipagem de estirpes bacterianas.

A diarreia aguda causada por ***Salmonella*** tem incidência geográfica variável, em países com características climáticas e sociais diversas, embora ocorrendo com maior prevalência em crianças de áreas com más condições sanitárias.[115,341,356,369,407,501,555,612,752,759,788-,835] ***Shigella*** continua a ser causa importante de diarreia infantil, embora com prevalência muito variável, de 0[1] a 28%,[369] em populações com condições climáticas e sociais diversas.[1,71,208,304,313,321,341,356,369,382,501,538,542,555,752,759,769,835]

A pesquisa nas fezes destes dois grupos bacterianos é feita, por rotina, usando meios de cultura com concentrações variáveis de sais biliares que inibem selectivamente o crescimento doutras bactérias entéricas. Vários meios de cultura têm sido utilizados em associação. Por que uns, muito selectivos, inibem o crescimento de algumas espécies de *Shigella* e outros, pouco selectivos, permitem o crescimento da flora autóctene, dificultando o crescimento e a visualização de *Salmonella* e *Shigella*, várias associações de meios de cultura têm sido propostas mas, conforme os autores, com resultados divergentes.[193,549,-...624,792,793]

Neste trabalho, todas as amostras fecais foram simultaneamente inoculadas em 3 caldos de enriquecimento (Selenito, Tetrationato e GN) e em 4 meios sólidos (MacConkey agar, XLD agar, SS agar e Hektoen enteric agar), todos fornecidos pelo mesmo fabricante. Os resultados obtidos, e já publicados,[755] mostram que o isolamento de algumas estirpes de *Salmonella* e *Shigella* não ocorreu em todos os meios de cultura. Importa pois, salientar que a maximização de resultados positivos só aconteceu quando foram utilizados, em associação, vários caldos de enriquecimento e vários meios sólidos.

Salmonella foi isolada nas fezes de 15.1% dos doentes internados, de 6.7% dos doentes tratados em consulta externa e, apenas, de uma (1.7%) criança assintomática. Foi o 2º agente bacteriano mais vezes isolado, com predomínio dos serotipos *wien*, *enteritidis* e *derby*. Estes números, raramente referidos em países industrializados, são frequentes em estudos efectuados em países em desenvolvimento.[304,341,356,369,407,501,555,752,759,835]

Shigella não assumiu a mesma importância de *Salmonella*. Apenas nas crianças com diarreia identificámos *Shigella*, exclusivamente das espécies *sonnei* e *flexneri* (tipo 2): em 2.6% das internadas e em 3.3% das tratadas em consulta externa.

Campylobacter jejuni é causa comum de diarreia em todos os grupos etários mas com maior incidência nas crianças.[97,100,132,188,394,436,442,729,737,761,847] No nosso estudo, só foi identificado em 3.3% dos doentes internados, resultados que traduzem a sua pouca importância como causa de diarreia nas crianças da nossa área, ao contrário do referido em alguns países onde é a bactéria com maior responsabilidade etiológica.[1,23,71,115,612,835,847]

Campylobacter não foi identificado em crianças do grupo testemunha, à semelhança do que acontece em países industrializados,[65,356,394,442,465,612,729,737,761,831] No entanto, em países em desenvolvimento, com taxas elevadas de prevalência,[313,559] é frequente o seu isolamento em crianças assintomáticas.[72,74,97,175,542,642,646,737]

Yersinia enterocolitica foi identificada nas fezes de 8 (2.9%) das crianças com diarreia que necessitaram de internamento, resultados sobreponíveis aos de outros investiga-

dores[3,297,304,341,501,542,612,833,835] e que traduzem a raridade da sua responsabilização na etiologia da diarreia. É de salientar que 50% dos isolamentos de *Yersinia enterocolitica* só foram conseguidos nas subculturas obtidas dos caldos de enriquecimento, após 3 semanas.

Em quatro (1.5%) doentes internados, ***Staphylococcus aureus*** constituía a quase totalidade da flora fecal, avaliada pelo exame cultural e pelo exame directo (Gram) das fezes. Tal facto levou-nos a atribuir-lhe significado patológico,[116] embora *Staphylococcus aureus* possa integrar a flora entérica autóctene de crianças assintomáticas ou com diarreia.[191]

Em 5 (1.8%) doentes internados, observámos crescimento supranormal de ***Candida albicans*** e admitimos a sua possível acção patogénica. Embora seja frequente a sua identificação em crianças saudáveis e assintomáticas,[131,378,783] em alguns doentes tem sido responsabilizada como causa de diarreia.[131,166,222,470,493,849]

Todos os doentes com *Candida albicans*, e 2 dos 4 doentes com *Staphylococcus aureus*, tomavam, à data do internamento, antibióticos de largo espectro pelo que o crescimento supranormal destes agentes poderá traduzir superinfecção.

A frequência dos 3 parasitas identificados, ***Giardia lamblia***, ***Ascaris lumbricoides*** e ***Trichiura trichiuris***, não foi significativamente diferente nas crianças dos 3 grupos estudados. Embora estes parasitas possam ser causa de diarreia,[5,94,129,197,495,531,545,623,773,785,802,824,841,873] não parecem ter, no nosso estudo, importância etiológica. O predomínio de lactentes na população estudada poderá explicar a pouca frequência de crianças parasitadas, muito mais elevada em crianças de outros grupos etários[495]

As **técnicas microbiológicas** utilizadas neste estudo, muito diferentes da habitual rotina da maioria dos laboratórios, explicam a elevada percentagem de diagnóstico etiológico obtida. Referimos, pela primeira vez no nosso País, a identificação de *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, ETEC, EAEC e EIEC nas fezes de crianças com diarreia aguda. Apenas não identificámos agentes pesquisados em 24.3% dos doentes internados e em 45% dos tratados em regime ambulatório, números sobreponíveis aos obtidos por outros investigadores, noutros países, quando usaram metodologia semelhante.[75,407,501,542,555,769,837]

Podemos afirmar que os exames microbiológicos de fezes com recurso a técnicas de rotina são insuficientes para correcta avaliação da etiologia da diarreia aguda. Contudo, não deixamos de salientar que a maioria das técnicas usadas neste trabalho são inacessíveis a grande parte dos laboratórios de microbiologia dada a sua complexidade e os altos custos que envolvem.

A **associação de agentes**, que verificámos em 25.7% dos doentes internados e em 5% dos doentes tratados no ambulatório, dificulta a responsabilização individualizada dos agentes identificados.[474,659] Admite-se que o *Rotavirus*, o agente mais vezes identificado em associação, facilite o crescimento de algumas bactérias e tenha efeito sinérgico na infecção.[75,110,208,356,474,501,573,618,659,721,727,752,768,837] Os nossos resultados parecem confirmar esta observação. De facto, a associação de agentes enteropatogénicos foi significativamente mais frequente nos doentes internados, com diarreia mais grave.

Os nossos resultados, com as reservas que apontámos para *Rotavirus* e EPEC, apoiam a responsabilização etiológica de todas as bactérias enteropatogénicas que identificámos,

mesmo em associação. De facto, *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella*, *Yersinia enterocolitica*, ETEC e EIEC só foram identificadas em crianças com diarreia (apenas uma criança do grupo testemunha eliminava *Salmonella*).

O elevado número de doentes com associação de agentes microbianos poderá resultar das más condições de salubridade em que vive grande parte dos nossos doentes,[356,501] 85.5% dos quais provinham de famílias de classe social 4 ou 5 da escala de Graffar.[299]

Em 24.3% dos doentes com diarreia que obrigou a internamento (Grupo I), em 45% dos doentes com diarreia tratados em regime ambulatório (Grupo II) e em 70% das crianças assintomáticas (Grupo III), não identificámos qualquer dos agentes pesquisados. A frequência de crianças com diarreia aguda e sem agente enteropatogénico nas fezes foi inferior à referida por muitos autores.[75,106,501,542,555,769,837] Mas, em estudos efectuados em populações com situação nutricional e social semelhante à nossa, e em que foram pesquisados os mesmos agentes, a frequência de diagnóstico etiológico foi sobreponível.[407]

Em alguns destes doentes sem infecção intestinal demonstrada, podemos admitir a responsabilidade de outras patologias na etiologia da diarreia. De facto, é generalizadamente aceite a associação de diarreia e **infecções extraintestinais**, particularmente urinárias, respiratórias e otite.[38,79,106,293,323,423,659,703,727,826] No nosso estudo, não identificámos qualquer dos agentes pesquisados em 3 das crianças com otite e em 6 das com infecção urinária. Nestes doentes, a diarreia aguda poder-se-á atribuir àquelas infecções.

Em 5 (1.8%) doentes internados, sem agente etiológico demonstrado, diagnosticámos **intolerância a proteínas do leite de vaca**, de acordo com os critérios de McCarty *et al.*.[516] Embora a sua responsabilidade como causa de diarreia aguda não esteja claramente estabelecida,[869] alguns autores admitem que, particularmente em crianças malnutridas,[106] a diarreia possa resultar da enteropatia aguda associada a esta intolerância.[494] Noutros estudos, a importância etiológica na diarreia aguda infantil atribuída à intolerância às proteínas do leite de vaca é mesmo maior do que a sugerida pelos nossos resultados.[106,516]

Num doente, com 18 meses de idade, sem agente patogénico nas fezes, foi diagnosticada **doença de Crohn**.

2. FACTORES DE INFLUÊNCIA NA ETIOLOGIA

Procurámos estabelecer correlação entre a etiologia e a gravidade da diarreia e vários factores: clima, condições socioeconómicas, situação nutricional, idade, sexo e tipo de alimentação das crianças.

Por que se conhecem variações sazonais de incidência de alguns agentes enteropatogénicos, colhemos, no Instituto de Meteorologia e Geofísica (Observatório da Serra do Pilar), informação sobre as características climáticas durante o tempo do estudo, apreciadas pelo valor médio diário da temperatura e humidade do ar. Globalmente, e conhecidas as médias dos anos em que havia registo, podemos considerar o clima no decurso do estudo como representativo do clima habitual na nossa área.

As **condições climáticas** influenciaram, significativamente, a frequência de identificação de alguns agentes, embora o número de crianças internadas por diarreia aguda não sofresse variação sazonal evidente.

Não encontrámos influência significativa da humidade do ambiente na frequência de bactérias ou vírus. No entanto, parasitas foram mais vezes observados nos meses de maior humidade.

A incidência de infecções por *Rotavirus* ocorreu, predominantemente, nos meses frios, tal como tem sido descrito em outros países de clima semelhante,[59,80,91,101,110,160,-182,190,251,293,320,382,419,489,534,542,659,822,835,850] mas em contradição com os resultados de Avillez *et al.*, num estudo efectuado em crianças da área de Lisboa.[28] No entanto, e como foi observado noutros trabalhos,[91,160,456,659,837] também identificámos *Rotavirus* no tempo quente.

A frequência de isolamento de bactérias não foi uniformemente afectada pelas variações climáticas. Embora identificadas ao longo de todo o ano, apenas foi claro o predomínio de EPEC, ETEC e de *Yersinia* nos meses frios. A incidência de *Salmonella*, maior nos meses mais quentes, teve distribuição heterogénea ao longo do ano: foi maior no fim do Inverno, início do Verão e começo das chuvas. A incidência de *Campylobacter* não foi significativamente afectada pela temperatura ambiente.

Os nossos resultados foram concordantes com os obtidos noutros estudos relativamente ao comportamento de EPEC, EIEC, *Shigella* e *Salmonella*.[356,369,489,567,619,835] No entanto, a referência de maior incidência de *Campylobacter* [100,188,436,442,847] e *Yersinia*[496] nos meses mais quentes, e de ausência de variações sazonais de incidência de ETEC,[106,535] não foi por nós observada.

A frequência de diarreia de etiologia não esclarecida foi significativamente maior no tempo mais quente.

Considerando os dados do INE relativos à distribuição da população infantil do nosso País por grupos etários, a frequência de diarreia aguda, obrigando a hospitalização, foi significativamente maior nos lactentes, particularmente nos primeiros 6 meses de vida. Este facto confirma ser a menor **idade** das crianças factor predisponente de maior frequência e gravidade da diarreia.[297,301,329,552]

Embora os agentes enteropatogénicos fossem identificados em crianças de todos os grupos etários, a idade influenciou, de forma significativa, e inversamente, a frequência de *Adenovirus*, *Rotavirus* e ETEC e, directamente, de Parasitas, *Shigella* e EIEC. No entanto, 41 (73.2%) estirpes de EPEC, 30 (73.2%) estirpes de *Salmonella*, 5 (62.5%) estirpes de *Yersinia* e 7 (77.8%) estirpes de *Campylobacter*, foram identificadas em crianças com menos de 12 meses de vida. Estes resultados são, globalmente, concordantes com os de outros autores.[58,297,304,369,416,619,638,718] Apenas o isolamento mais frequente de *Campylobacter*, em lactentes, não é geralmente referido.[74,97,100,132,188,394,436,442,729,737,761,847]

O grupo etário dos 6 aos 24 meses é, habitualmente, referido como o de maior incidência de *Rotavirus*.[110,182,456,501,659,822,837,865] Contudo, nos nossos doentes, a identificação de *Rotavirus* ocorreu em idades mais precoces: 77 (70.6%) dos doentes eram lactentes com mais de 3 meses de vida, facto observado, por vezes, em populações com maus padrões sanitários.[256]

Como noutros estudos,[305,818,850,882] e por razões que desconhecemos, encontrámos predomínio de diarreia em crianças do **sexo** masculino (61%), significativo sob o ponto de vista estatístico, apenas nos lactentes no primeiro semestre de vida.[305,850]

Quanto à frequência dos agentes enteropatogénicos, apenas a de *Rotavirus*, EPEC e *Salmonella* foi significativamente superior nas crianças do sexo masculino.

A elevada frequência de utilização de **alimentação** materna inicial, com rápido declínio nos primeiros meses de vida, e a precoce diversificação do regime alimentar, seguem globalmente o padrão alimentar das crianças de outras regiões do nosso País.[13,553,578] No entanto, foi maior o número de crianças que iniciou aleitamento com leite de vaca fresco (7.4%), leite percentualmente predominante em crianças após os 4 meses de vida.

Somente 2.9% das crianças tomavam leite materno quando adoeceram, facto que vem salientar a importância do colostro e leite maternos na protecção intestinal contra os agentes microbianos.[43,108,126,156,243,262,274,287,330,409,435,438,585,734,760,772,855,857]

A introdução de novos alimentos aumenta o risco de infecção intestinal.[54,295,313,409,507,762] Dos nossos doentes, 193 (71%) estavam com regime alimentar diversificado.

A baixa frequência de aleitamento materno e a precocidade de diversificação do regime alimentar das nossas crianças podem contribuir para a elevada incidência e morbilidade da infecção entérica. Contudo, não verificámos correlação entre o regime alimentar dos doentes e a etiologia microbiana da infecção.

Para avaliação da **situação nutricional** dos doentes, relacionámos entre si alguns parâmetros antropométricos (peso, estatura, perímetro cefálico e do braço) pelos métodos de Jelliffe,[366] McLaren,[522] Waterlow[854] e pela relação perímetro braqueal esquerdo/perímetro cefálico.[377] Optámos pelo proposto por MacLaren pois, além de permitir aplicar critérios idênticos a toda a população, mostrou maior concordância quando comparado, individualmente, com qualquer dos outros métodos.[7]

Eram malnutridas 41.2% das crianças, principalmente lactentes com menos de 3 meses de vida, oriundas de áreas rurais ou urbanas degradadas e vivendo em más condições socioeconómicas. Embora não conheçamos a prevalência de carências nutricionais nas crianças da nossa zona, os valores obtidos em estudos realizados em comunidades restritas da nossa região,[794,795] são inferiores aos que observámos. Estes resultados confirmam a implicação dos défices nutricionais, em associação com outros factores atrás referidos, como factor de risco de incidência e gravidade da diarreia, bem demonstrada noutros estudos.[55,87,88,120,121,122,203,313,357,362,425,463,467,505,507,520,552,602,715,716,790,811,819]

Embora, estatisticamente, apenas fosse significativo o predomínio de *Rotavirus* em crianças bem nutridas, e de diarreia de etiologia não esclarecida em crianças malnutridas, a apreciação global dos resultados mostra isolamento mais frequente de *Salmonella*, *Campylobacter* e de EIEC em crianças com carências nutricionais.

"A diarreia é companheira inseparável da pobreza, da insalubridade do ambiente e da ignorância".[428] A importância da diarreia relaciona-se, mais estreitamente, com más condições socioeconómicas do que com o clima, com a pobreza mais do que com a área de habitação.[530,574,672] Onde há pobreza há más condições socioeconómicas, há carências nutricionais e há também diarreia. Disseminando-se os agentes infecciosos causadores de diarreia, habitualmente, por via fecal-oral, directamente ou por intermédio de água, alimentos ou objectos contaminados, é evidente a influência das condições socioeconómicas, particularmente a disponibilidade de condições sanitárias, na incidência da diarreia.

De acordo com a escala, modificada, de Graffar,[299] 85.5% dos doentes estudados provinham de famílias de **classe social** 4 ou 5 e, apenas, 4.1% de classes 1 ou 2: 7.5% dos progenitores dos doentes eram analfabetos e 33.5%, embora soubessem ler e escrever, não completaram a instrução primária: apenas 48.1% das casas tinham água corrente, 44.8% tinham esgotos e 48.1% tinham casa de banho. Acresce que, nas crianças oriundas de

famílias com más condições sociais, predominavam outros factores predisponentes de incidência e morbilidade da diarreia: menor idade, carência nutricional e maiores agregados familiares. No entanto, como é referido noutros estudos,[456] a frequência relativa dos agentes enteropatogénicos não foi afectada, de forma significativa, pela origem geográfica dos doentes, condições sanitárias da habitação, composição do agregado familiar ou tipo social.

O uso de **antibióticos** antes do internamento afectou, directamente, a frequência de identificação de *Rotavirus* e ETEC e ocorreu em todos os doentes em que admitimos a responsabilização de *Candida albicans*. Surpreende-nos, e para o facto não encontrámos justificação, que a antibioterapia não tivesse influenciado a frequência de identificação de bactérias invasivas e que, nas crianças que não tomaram antibióticos antes do internamento, tenham sido menos vezes identificados agentes enteropatogénicos.

3. ESTUDO CLÍNICO E ANALÍTICO

Identificado o agente ou agentes etiológicos, procurámos, pela apreciação de vários parâmetros **clínicos e analíticos**, caracterizar as particularidades da diarreia que cada um provocou. Com este objectivo, distribuímos os doentes internados (Grupo I) por vários grupos etiológicos: doentes em que identificámos um único agente nas fezes, doentes em que identificámos apenas parasitas, isolados ou associados entre si, doentes em que identificámos bactérias invasivas, isoladas ou associadas entre si, doentes em que identificámos *Rotavirus* em associação com EPEC, com ETEC ou com bactérias invasivas, e doentes com diarreia de etiologia não esclarecida.

- **Fezes**

Como noutros trabalhos,[501] não encontrámos, ao exame **macroscópico**, influência da etiologia da diarreia na **consistência** das fezes. Também, independentemente dos agentes identificados, predominou a **coloração** amarela, verde ou amarela/verde. Contudo, dos 6 (2.2%) doentes com fezes brancas, 5 tinham diarreia por *Rotavirus*, associação igualmente referida noutras investigações,[489,801] e a coloração castanha, de 24 (8.8%) das amostras fecais, foi significativamente mais vezes observada na diarreia por bactérias invasivas.

As fezes continham **muco** na diarreia de todas as etiologias mas com significativo predomínio, e durante mais tempo, na diarreia por bactérias invasivas, particularmente por *Salmonella*, *Campylobacter* e *Shigella*, à semelhança do referido noutras investigações.[65,71,72,96,99,100,130,188,297,391,394,483,488,496,542,638,659,753,831]

Como era de esperar,[65,71,72,99,100,130,188,297,340,394,483,488,496,542,638,753,831] a presença de **sangue**, observada macroscópica ou microscopicamente, foi significativamente mais frequente nas fezes de diarreia por bactérias invasivas. As fezes na diarreia por *Rotavirus* raramente têm sangue.[173,489,501] Só as fezes de 4 doentes com *Rotavirus* e de 1 com EPEC tinham sangue. Nunca observámos sangue nas fezes de diarreia por ETEC, por *Rotavirus* associado a EPEC ou ETEC, ou na diarreia por *Rotavirus* sem seroconversão do título de anticorpos antirrotavírus.

Também na diarreia por bactérias invasivas a presença de sangue nas fezes foi significativamente mais prolongada. Dos 15 (5.5%) doentes em que durou ≥24 horas, 3 tinham diarreia por *Salmonella*, 3 por *Shigella*, 2 por *Campylobacter*, 1 por EPEC e 5 tinham diarreia de etiologia não esclarecida,

A pesquisa de **leucócitos** nas fezes é, desde há muito tempo,[17] sugerida como método de diagnóstico de diarreia acompanhada de lesão da mucosa intestinal distal.[205,315,331,483,526,608,616,617,659,673,708] É método de execução simples, mesmo para observadores sem treino laboratorial. Observámos leucócitos em 118 (43.4%) das amostras fecais, por exame directo ou em esfregaços corados pelo azul de metileno.

Todos os doentes com diarreia por bactérias invasivas, isoladas ou associadas a outros agentes, excepto 2 com *Salmonella enteritidis*, tinham leucócitos nas fezes, resultados que confirmam referências de outros autores.[65,205,315,331,483,484,487,501,526,579,608,616,659,673,705,771] Contudo, a presença de leucócitos nas fezes não é específica da diarreia por bactérias invasivas: observámo-la em 10.7% dos doentes com diarreia por *Rotavirus*, em 45.5% por EPEC e em 22.7% sem qualquer agente microbiano identificado. Assim, somente a ausência de leucócitos nas fezes constitui um parâmetro de valorização importante no diagnóstico presumptivo da etiologia da diarreia ao permitir excluir, com sensibilidade de 98.7%, a responsabilidade de bactérias invasivas.

Em muitos estudos de diarreia por *Rotavirus* não foram observados leucócitos fecais, ou só o foram ocasionalmente.[139,205,242,501,658,673] Mas, alguns investigadores confirmam os nossos resultados,[106,337,489,659] e atribuem a presença de leucócitos a lesão do cólon pelo próprio *Rotavirus*[106,173,328,489] ou por bactérias invasivas não identificadas.[489]

Quando o exame microbiológico das fezes não demonstra a existência da agentes patogénicos, a presença de leucócitos poderá traduzir manutenção de lesão intestinal após a eliminação do agente causador da diarreia, como demonstraram Harris *et al.*.[331] em diarreia induzida em voluntários.

De acordo com Stool et *al.*[771] encontrámos percentagem elevada (45.5%) de fezes com leucócitos em diarreia por EPEC, associação que é raramente referida,[331,542,616,769,867] mas que se poderá explicar pelo facto das estirpes EPEC colonizarem, habitualmente, a porção distal do íleon e o cólon[105,138,359] e causarem lesões histológicas evidentes.[31,451,546]

Encontrámos, mais frequentemente, leucócitos nas fezes não ácidas, sem substâncias redutoras, mas com muco ou sangue, características frequentemente associadas à diarreia por bactérias invasivas, e nos doentes com positividade de parâmetros sugestivos de repercussão sistémica da infecção (hipertermia, leucocitose, neutrofilia e valores elevados de antitripsina alfa-1 sérica ou de proteína C reactiva). A osmolalidade das fezes e a concentração dos electrólitos não influenciaram a frequência da observação de leucócitos.

É comum haver, em crianças com diarreia aguda, compromisso da absorção de açúcares, na dependência de lesões vilositárias,[159,363,459] provocando, consequentemente, fezes ácidas e com forte poder redutor. De facto, dos 204 doentes investigados nesse sentido, 52 (25.5%) tinham fezes com **substâncias redutoras** e 51 (25.%) com **pH** <6.

Substâncias redutoras, traduzindo limitação de absorcão de açúcares, foram significativamente mais vezes observadas na diarreia por *Rotavirus*. A pesquisa de substân-

cias redutoras foi positiva em 41.9% dos doentes com *Rotavirus* e apenas em 10.3% doentes com diarreia por bactérias invasivas. De salientar que nenhum dos doentes com diarreia por *Rotavirus*, mas sem seroconversão do título de anticorpos específicos, teve fezes com pH <6 ou com substâncias redutoras. Como Davidson *et al.*[162] também encontrámos percentagem elevada de fezes ácidas e com substâncias redutoras em crianças com diarreia de etiologia não conhecida (20.4%).

A frequente presença de substâncias redutoras por nós verificada nas fezes dos doentes com diarreia por *Rotavirus*, contraria referências de outras investigações.[110,159,270,727,782] Porém, o nosso achado não nos surpreendeu já que a infecção por *Rotavirus* se localiza, sobretudo, na parte proximal do intestino delgado e ocasiona limitação temporária da actividade lactásica do enterócito,[9,159,161,184,398,402,472,473,713,745,746,780] que se prolonga por 3 a 8 semanas,[159] com bloqueio transitório de absorção dos açúcares. Aliás, estudos de outros autores[106,139,159,162,358,369,459,489,562,680,685] concordam com os nossos resultados.

Embora alguns autores não refiram influência da idade dos doentes na frequência da intolerância aos açúcares,[162,270] no nosso estudo, como no de Barnes *et al.*,[35] verificámo-la mais vezes em lactentes com menos de 6 meses.

A frequência da observação de fezes ácidas ou com substâncias redutoras não foi influenciada pela sua osmolalidade. Foi, no entanto, menor na diarreia com grande componente secretor, apreciado pelo elevado teor fecal de Cl^-.

Encontrámos correlação altamente significativa entre a frequência de pH<6 e a presença de substâncias redutoras; apenas 4 (7.8%) amostras de fezes com pH <6 não tinham substâncias redutoras. Estes resultados sugerem ser a determinação de pH suficiente para, na prática clínica, caracterizar a intolerância aos açúcares.

Valores baixos de **osmolalidade fecal** foram mais vezes observados nos doentes com diarreia por ETEC e ETEC. Porém, apenas 8 doentes (2 com ETEC, 1 com ETEC mais *Rotavirus*, 2 com EPEC, 1 com EPEC mais *Ascaris*, 1 com *Rotavirus* e 1 sem agente identificado) tinham diarreia secretora, caracterizada por $[Na^+]$ fecal $\geq$ 90 mOsm/kg e osmolalidade $\leq$ a $2\{[Na^+]+[K^+]\}$.

O aumento da excreção fecal de **electrólitos** na diarreia aguda foi largamente estudado na infecção por *Vibrio cholerae* após o conhecimento da acção do coleragénio, mediada pela acumulação intracelular de cAMP, no seu efluxo para o lume intestinal.[480,622] Mas são relativamente escassas as referências, na literatura, aos valores da sua concentração nas fezes de doentes com diarreia de outra etiologia.

Fizemos a determinação de electrólitos nas fezes da primeira dejecção após o internamento. É de notar, porém, que no momento da colheita das fezes era variável a duração da diarreia e o tipo de atitudes terapêuticas já tomadas, circunstâncias que poderiam afectar os resultados.[20,246,562,782] No entanto, as variações não seriam muito importantes, tendo mesmo Ghisolfi *et al.*,[277] num trabalho recente, afirmado não terem verificado correlação significativa entre o teor de electrólitos fecais e a duração e tipo de tratamento da diarreia.

Os valores médios da concentração fecal dos electrólitos, nos nossos doentes, não diferiram dos referidos na literatura.[20,246,277,480,543,561,562,678,719] De salientar que, em doentes com diarreia da mesma etiologia, encontrámos grande dispersão de valores, facto também verificado por Ghisolfi *et al*,[277] Nichols *et al.*[574] e Finberg *et al.*[246]

Com excepção da diarreia por *Shigella*, observámos maiores concentrações fecais de **sódio** na diarreia por bactérias invasivas, isoladas ou associadas entre si, e por EPEC ou ETEC do que na diarreia por *Rotavirus*. As menores perdas fecais de sódio ocorreram na diarreia de etiologia não esclarecida. Os resultados foram semelhantes aos de outros estudos.[179,276,277,543,782] Apenas na diarreia por *Rotavirus* foram mais altos que os referidos por Sack *et al.*[678] e Tallet *et al.*.[782]

Embora alguns autores não refiram influência da etiologia da diarreia no teor das fezes em K^+,[480,543] nós encontrámos valores mais baixos nos doentes com EPEC ou ETEC e valores mais altos na diarreia por *Rotavirus* associados a bactérias invasivas ou na diarreia por *Shigella*.

O valor de [Cl^-] fecal, globalmente superior à referida noutros trabalhos,[277,480,543,561,562,574,678,719] foi maior na diarreia por EPEC, ETEC ou por ETEC associado a *Rotavirus*, do que na diarreia por *Rotavirus*. Todas as bactérias invasivas, excepto *Shigella*, provocaram diarreia com maior teor de Cl^- fecal do que a causada por *Rotavirus*.

Como noutros estudos,[480,543] as concentrações fecais mais elevadas de Na^+ e de Cl^- ocorreram nos nossos doentes com diarreia provocada por ETEC, traduzindo o envolvimento de toxinas LT/ST na sua patogénese.[244,249,281,310,533] Os valores, igualmente elevados, na diarreia por EPEC, *Salmonella* ou *Yersinia enterocolitica* poderão resultar da acção de outras toxinas,[32,283,391,422,488,581,586,611,613,650,695,717] que não investigámos.

Em diversas situações patológicas do tracto intestinal ocorrem, nas fezes, perdas anormais de proteínas plasmáticas, parte delas rapidamente degradada por proteases pancreáticas e bacterianas.[200] Contudo, a **antitripsina alfa-1** resiste à proteólise e é excretada nas fezes sem degradação.[335,724] Após o trabalho de Crossley e Elliott,[146] muitas referências confirmam o comportamento da antitripsina alfa-1 como marcador natural da perda de proteínas plasmáticas pelas fezes.[45,146,485,486,799] Como os alimentos a não contêm,[486] a sua presença nas fezes, acima de valores normais, traduz aumento de permeabilidade da parede intestinal às proteínas plasmáticas.

Diversa metodologia tem sido sugerida para a sua quantificação. Assim, tem sido proposto o seu doseamento numa amostra randomizada de fezes,[799] ou nas fezes de 24 horas[338,393] ou nas de vários dias,[45] ou ainda a determinação da sua "clearance".[45,285,338,393] Embora alguns trabalhos[45,397] atribuam maior rigor à utilização de "clearance", o doseamento de antitripsina alfa-1 numa amostra de fezes parece reflectir, com segurança, as perdas intestinais anormais de proteínas plasmáticas.[478,798] Como outros autores,[397,485,858] optámos pela liofilização das fezes para neutralizar o seu teor, variável, de água que pode constituir causa de erro importante.

Sabe-se que na diarreia aguda poderá haver enteropatia exsudativa, independentemente da etiologia, que poderá contribuir para o agravamento do estado nutricional das crianças, particularmente das malnutridas.[146,486,685,860] Dos doentes estudados, 41.1% tinham teor de antitripsina alfa-1 fecal significativamente superior ao valor obtido num grupo de crianças assintomáticas, confirmando a existência de enteropatia exsudativa. Porém, não encontrámos relação entre a etiologia da diarreia e o aumento de antitripsina alfa-1 fecal. Além disso, este aumento não foi influenciado pela idade e situação nutricional das crianças, características das fezes, nomeadamente pela presença de sangue, muco ou leucócitos, gravidade da desidratação, teor de proteínas séricas, ou sintomatologia clínica associada. Não houve, também, correlação significativa entre o valor de antitripsina alfa-1 fecal e sérico.

O método que utilizámos é simples, de fácil execução e, por que utiliza um marcador endógeno, não é agressivo para o doente tornando-o recomendável para avaliação de enteropatia exsudativa, particularmente nas crianças.

É conhecida a importância de **IgA** secretora na defesa da superfície das mucosas contra a agressão microbiana.[846] Neste contexto, doseámos a IgA fecal em 52 doentes com diarreia aguda e num grupo testemunha de 26 crianças assintomáticas. Em 48.1% dos doentes encontrámos valores significativamente superiores aos do grupo testemunha, embora as determinações tivessem sido feitas no primeiro dia de internamento e a excreção fecal de IgA seja maior pelo sétimo dia de diarreia.[163,762]

Só uma criança assintomática tinha IgA anormalmente elevada, resultados que contrariam os de Bortulussi *et al.*[75] que não encontraram diferenças entre os doentes e o grupo testemunha.

Embora a etiologia da diarreia não pareça influenciar o teor fecal de IgA, as crianças com diarreia por *Rotavirus* tiveram, mais vezes, valores elevados.

A quantificação de IgA nas fezes, que não foi influenciada pela idade dos doentes, situação nutricional, gravidade da desidratação, sintomatologia clínica ou características das fezes, tinha correlação positiva com o seu teor sérico.

A elevação de IgA nas fezes poderá traduzir a sua intervenção na resposta imunológica intestinal à agressão de agentes enteropatogénicos.

- **Sangue**

Até há alguns anos, a **desidratação hipernatrémica** foi uma das mais frequentes complicações da diarreia aguda infantil, sobretudo quando se associava ao declínio da alimentação materna, à utilização de leites industriais com excesso de soluto ou mal reconstituídos, ou ao uso terapêutico de líquidos hiperosmolares.[19,165,360,766] Controlados estes factores predisponentes, a sua frequência tem diminuído.[164,220,247,408,629]

Assim, e de acordo com outros autores,[81,155,164,220,320,340,408,456,489,659,850] também encontrámos, nos nossos doentes, predomínio da desidratação isotónica. No entanto, 14.3% dos doentes tinham hipernatremia, percentagem superior à habitualmente mencionada.[340,408,456,659,693]

Alguns autores referem independência entre os desvios de osmolaridade sérica e a etiologia da diarreia[340,408] enquanto outros encontraram, em casos esporádicos, hipernatremia associada a *Rotavirus*.[456,489,659] Porém, nós verificámos maior frequência de hipernatremia na diarreia por *Rotavirus*, isolado ou associado com outro agente, e de hiponatremia na diarreia por bactérias, particularmente por *Salmonella*. A maior tendência para hipernatremia na diarreia por *Rotavirus* poderá estar associada à presença, nas fezes, de açúcares não absorvidos que podem ser causa de diarreia osmótica.

Como era de esperar,[19,408,693] a menor idade dos doentes constituíu factor predisponente de hipernatremia e, o défice nutricional, de hiponatremia.

A elevada percentagem de doentes com **hiponatremia** (14%) poderá justificar-se pelo grande número de crianças malnutridas (41.2%) no grupo que estudámos.

Tinham **hipercloremia**, 35.7% dos doentes e **hipocloremia**, 5.2%. O teor sérico de Cl^-, independente da nutrição das crianças, correlacionava-se directamente com a idade dos doentes. Os valores mais elevados estavam associados a diarreia por *Rotavirus* e, os mais baixos, a diarreia por bactérias invasivas.

Tinham **hipercaliemia**, 4.8% dos doentes e **hipocaliemia**, 16.5%. A gravidade do défice nutritivo não afectou os valores de K^+ mas os lactentes de menor idade mostraram ter maior tendência para hipercaliemia. Ao contrário de autores que encontraram valores mais baixos de K^+ em crianças com diarreia por *Rotavirus*,[893] no nosso estudo, a etiologia da diarreia não afectou, significativamente, o teor sérico de K^+, embora houvesse tendência para hipocaliemia em doentes com diarreia por ETEC, isolada ou associada a *Rotavirus*, e por *Yersinia* ou *Shigella*.

Em 189 (69.5%) doentes encontrámos valores de **uremia** anormalmente elevados, sem relação significativa com a etiologia da diarreia, resultados também observados noutros trabalhos.[360,818] Os valores mais elevados de ureia sérica ocorreram, independentemente da situação nutricional, em crianças de mais idade, mais desidratadas, com maior osmolaridade sérica e com leucocitose ou neutrofilia.

Não verificámos, ao contrário de outros autores,[659,765] associação mais frequente de hiperuremia com diarreia por *Rotavirus*.

Verificámos **hiperuricemia** em 49.1% dos doentes. Os valores mais elevados foram observados nos doentes com diarreia por *Rotavirus* e com seroconversão do título de anticorpos específicos, isolado ou associado a outros agentes, e nos doentes com diarreia por *Shigella*. A frequência de hiperuricemia foi maior nos doentes com diarreia por *Rotavirus* associado a outros agentes ou na diarreia por *Shigella*.

Hiperuricemia em crianças com diarreia também tem sido referida por outros autores[2,427] que a relacionam com a diminuição do líquido extracelular,[345,427] os níveis séricos de ureia[457] e a acidose.[399] Mas, no nosso estudo, o teor sanguíneo de ácido úrico não foi influenciado, significativamente, por qualquer destes parâmetros. Foi, no entanto, positiva a correlação entre o valor de ácido úrico e a hipertermia ou a hipernatremia, reflectindo, possivelmente, lesões celulares subjacentes.[2,12,427,...588]

O teor sérico de ácido úrico não foi afectado pela idade dos doentes mas as crianças malnutridas ou com anemia, com menor actividade metabólica, tinham valores significativamente mais baixos.

A hiperuricemia não obriga a qualquer atitude terapêutica,[2,427] revertendo com a correcção da desidratação.

A associação de **hiperglicemia** com diarreia aguda e desidratação, particularmente hipernatrémica,[491,696,767] é referida desde há bastantes anos mas continua escassa a informação sobre a sua frequência e patogénese.[631] Como Rabinowitz,[631] obsevámo-la em muitas das crianças com diarreia aguda (34.2%), independentemente da sua idade, situação nutricional e tipo de terapêutica praticada antes do internamento, mas associada com desidratação mais grave.

A patogénese da hiperglicemia não é clara. Admitem-se como causas possíveis mecanismos, a elevação de hormonas de stress - glucagina, cortisol e somatotrofina,[216,631] e a menor utilização de glicose, pelos tecidos periféricos, na hipernatremia[577] e na deplecção de potássio.[332] Mas no nosso estudo, os níveis de glicemia, embora se correlacionassem directamente com os valores séricos da $[Na^+]$ e 54.6% das crianças com hipernatremia tivessem hiperglicemia, foram independentes da $[K^+]$ sérica.

Nas crianças com diarreia e hiperglicemia, a resposta insulínica é inferior à esperada para os valores da glicemia e a sua eficácia está comprometida pela acção de ácidos

gordos livres,[336] da uremia,[544] de hormonas de contraregulação,[631] de acidose metabólica[863] e pela anormalidades de receptores específicos.[631] Contrariamente à observação de Rabinowitz,[631] não encontrámos correlação entre hiperglicemia e acidose ou uremia.

As infecções víricas podem causar resistência periférica à insulina.[728] No entanto, foi em doentes com diarreia por bactérias invasivas que encontrámos níveis de glicemia mais elevados, embora de forma não significativa.

O restabelecimento do equilíbrio hidroelectrolítico normaliza a glicemia sem recurso à insulinoterapia.[631]

Em algumas doenças gastrintestinais,[272] nomeadamente na diarreia por *Rotavirus*,[185,387,426,427,579,782] e em crianças malnutridas,[339] pode haver elevação transitória das **aminotransferases séricas**. No nosso estudo, 39 (14.3%) dos doentes tinham elevação de **ALT** e 39 (14.3%) de **AST**. Os valores elevados de ALT foram mais vezes observados em crianças no primeiro semestre de vida mas, ao contrário de outros autores,[272] não encontrámos influência da situação nutricional dos doentes ou da gravidade da desidratação na sua quantificação. Como noutros estudos,[185,387,426,427,579,782] a subida de ALT foi mais vezes observada em crianças com diarreia por *Rotavirus* do que por bactérias invasivas. Foi, também, frequente em crianças com diarreia de etiologia não esclarecida. É de salientar que, nos doentes com diarreia por ETEC, EIEC, *Yersinia* ou nos doentes com *Rotavirus* mas sem seroconversão do título de anticorpos antirrotavírus, não encontrámos valores elevados de aminotransferases.

A subida de AST não foi significativamente influenciada pela idade e situação nutricional dos doentes. Na diarreia por *Rotavirus*, mas sem seroconversão do título de anticorpos específicos, por ETEC ou por EIEC não encontrámos valores elevados de AST que foram mais frequentes na diarreia por *Shigella* ou por *Rotavirus* associado a ETEC ou a bactérias invasivas.

A pequena percentagem de crianças com aminotransferases elevadas pode ser atribuida ao facto de as determinações terem sido efectuadas precocemente, na fase aguda da doença, já que a subida do teor destas enzimas é tardia e persiste após cessar a eliminação de *Rotavirus*.[579]

O teor sérico de **proteínas totais** correlacionava-se, directamente com a idade dos doentes. Observámos menores teores proteicos em crianças mais desidratadas, facto que poderá explicar-se pela ocorrência de desidratações mais graves em crianças malnutridas e de menor idade. De facto, embora os valores de proteinemia, globalmente, não fossem significativamente afectados pela situação nutricional, 40.9% dos doentes com proteínas totais < 60g/l eram malnutridos. Os doentes com diarreia por ETEC ou por *Salmonella* tiveram os valores mais baixos de proteínas totais.

A idade dos doentes, a gravidade da desidratação e a situação nutricional não afectaram, de forma significativa, o teor sérico de **albumina**. Contudo, 64.3% dos doentes com albumina <35 g/l eram malnutridos. Observámos os valores mais baixos de albumina nos doentes com diarreia por *Salmonella*.

Os valores de **globulina gama**, não tiveram correlação significativa com a situação nutricional dos doentes mas foram influenciados, negativamente, pela gravidade

da desidratação, e positivamente, pela sua idade. A etiologia da diarreia não afectou, de forma significativa, o teor sérico globulina gama.

O teor sérico das **imunoglobulinas (IgG, IgM e IgA)** não foi influenciado pela gravidade da desidratação e teve correlação positiva com os níveis séricos de proteínas totais e de globulina gama. Como era de esperar, a idade dos doentes afectou directamente os valores de IgG e IgM mas, curiosamente, não afectou os valores de IgA. Como tem sido descrito,[15] encontrámos teores de IgG mais elevados em crianças malnutridas. Os valores de IgG, em 14 (12.1%) doentes, de IgM, em 49 (42.4%) e de IgA, em 27 (23.3%), foram superiores ao normal para a idade.

A etiologia da diarreia não influenciou a frequência de valores anormais de qualquer das imunoglobulinas.

As **proteínas de fase aguda** constituem um grupo heterogéneo de proteínas plasmáticas, de síntese hepática, cuja concentração sobe após qualquer agressão tecidular. O aumento de produção mediado, provavelmente, por interleuquina 1 libertada por macrófagos no local da inflamação,[861] que acontece em muitas situações patológicas, é menos acentuado nas infecções víricas do que nas infecções bacterianas.[135,515]

Como a amplitude e rapidez da subida da sua concentração sérica é diferente, quantificámos **proteína C reactiva**, de resposta rápida e subida acentuada e **antitripsina alfa-1**, com subida mais lenta e menos marcada,[430] no primeiro dia de internamento e após 3 semanas.

Na primeira determinação, 67.2% doentes, de todos os grupos etiológicos, mas com predomínio significativo de diarreia por bactérias invasivas, tinham proteína C reactiva ≥0.5 mg/dl. Na segunda determinação, só 18 (15.3%) doentes tinham proteína C reactiva ≥0.5 mg/dl, dos quais 10 com diarreia por *Rotavirus*, isolado ou associado a EPEC, e apenas 3 com diarreia por bactérias invasivas.

O comportamento de antitripsina alfa-1 foi diferente. Na primeira determinação, só 9 doentes (6.7%) tinham antitripsina alfa-1 ≥ 400 mg/l, independentemente da etiologia da diarreia, mas com valores mais altos na diarreia por bactérias invasivas. Na segunda quantificação, o teor sérico de antitripsina alfa-1 foi sempre inferior a 400 mg/l embora, em 17 (23.9%) doentes, 10 dos quais com diarreia por *Rotavirus*, fosse superior ao da primeira determinação.

Apenas na primeira determinação houve correlação significativa entre os valores de proteína C reactiva e de antitripsina alfa 1.

Estes resultados sugerem que, embora a resposta sistémica seja mais precoce e acentuada na diarreia por bactérias invasivas, *Rotavirus* provocarão alterações mais tardias ou com maior duração.

Os valores das proteínas de fase aguda correlacionavam-se, inversamente, com a idade dos doentes, mas não foram influenciados pela sua situação nutricional, gravidade da desidratação, presença de acidose metabólica, otite ou infecção urinária, nem mostraram correlação significativa com as determinações séricas de ureia, glicose, ácido úrico, hemoglobina, leucócitos, neutrófilos ou linfócitos. Foram mais elevados em crianças com fezes contendo muco, sangue ou leucócitos.

Noventa e quatro (34.6%) doentes tinham **anemia**, independentemente da etiologia da diarreia, que foi mais frequente nos malnutridos ou de menos idade.

O número total de **leucócitos** ou **neutrófilos**, e o número de crianças em que foram superiores à média para a idade, foi significativamente maior na diarreia por bactérias invasivas do que na diarreia por *Rotavirus*, EPEC ou ETEC, como é descrito por outros investigadores.[489,659]

A neutropenia, nos doentes com *Rotavirus*, estaria relacionada com sequestração de neutrófilos no intestino delgado, mais do que com depressão medular.[489]

Embora os doentes com diarreia por *Rotavirus* tivessem, em valor absoluto, número de **linfócitos** superior ao das crianças com diarreia por *Campylobacter*, *Yersinia* ou *Shigella*, o número de crianças com linfócitos acima da média para a idade não foi influenciado pela etiologia da diarreia.

Embora sem correlação significativa com a etiologia da diarreia, em 70.6% dos doentes o número de **eosinófilos** era menor que o limite inferior de normalidade para a idade dos doentes e, apenas em 4 (1.5%), maior que o limite superior.

Acidose metabólica, na diarreia aguda, resulta da associação de vários factores: perda de bicarbonato para o lume intestinal, libertação de H^+ na degradação pelas bactérias, no cólon, de nutrientes não absorvidos, hiperlacticidemia e insuficiência renal funcional.[339,680,796] Na diarreia por agentes enterotoxígenos, a acidose metabólica será consequência, principalmente, da perda fecal de bicarbonato,[244] enquanto que, na diarreia por *Rotavirus*, resultará fundamentalmente da fermentação bacteriana dos carbohidratos não absorvidos.[358,459,489,562,685]

Tinham acidose 146 (53.7%) doentes, independentemente da idade, situação nutricional e importância da desidratação, percentagem semelhante à referida noutros estudos.[320,340,360,427,456,489,659,765,782,893]

A associação mais frequente de acidose e diarreia por *Rotavirus*, referida por alguns autores,[489,765,782,893] não foi por nós observada. Como noutros trabalhos,[340,659] a etiologia da diarreia não influenciou, significativamente, a presença de acidose. No entanto, na diarreia por *Rotavirus*, a frequência de acidose foi maior nos doentes com seroconversão do título de anticorpos específicos do que naqueles sem seroconversão.

- **Urina**

Como outros autores,[426] não observámos influência da etiologia da diarreia nos valores da **osmolaridade urinária** que, no entanto, foi directamente afectada pela idade dos doentes. A gravidade da desidratação e os níveis séricos de osmolaridade e de concentração de electrólitos não influenciaram, significativamente, a osmolaridade da urina. Contudo, crianças com hiponatremia, embora sem correlação significativa, tinham maior osmolaridade urinária.

A urocultura foi positiva em 35 (12.9%) doentes, em 6 (17.1%) dos quais não identificámos agente enteropatogénico. *Escherichia coli*, em 30 (85.7%), foi o agente mais vezes responsável pela infecção urinária.

Tem sido verificado não haver correlação entre a etiologia da diarreia e a positividade da urocultura,[106,426,489,659] facto que também observámos nos nossos doentes.

Os doentes com infecção urinária tinham mais vezes hiperuremia, neutrofilia e presença de acidose metabólica.

- **Sintomatologia**

Embora a expressão clínica não permita identificar a causa da diarreia,[118,542] alguns parâmetros mostraram comportamento peculiar em alguns grupos etiológicos.

Apenas para 13 (4.8%) crianças, em 8 (61.5%) das quais identificámos *Rotavirus*, apurámos **contacto** com outros doentes com diarreia aguda.

A diarreia teve **início súbito** em 89.7% dos doentes, independentemente da sua etiologia.

O **número médio, diário, de dejecções** (7.1±2.3) foi maior em crianças com menos idade ou com diarreia por *Rotavirus*, EPEC ou *Campylobacter*. A diarreia por ETEC ou *Shigella* provocou menor número de dejecções. Crianças com associação de *Rotavirus* e ETEC tiveram menos dejecções do que as crianças com *Rotavirus* como único agente.

A duração da diarreia antes do internamento (3.1±11.4 dias), que só em 4% dos doentes foi superior a uma semana, não foi afectada pela idade ou situação nutricional das crianças. Foi, no entanto, maior nas de origem rural, provavelmente por mais tardio recurso a cuidados médicos.

Em alguns estudos não foi verificada influência da etiologia na duração da diarreia antes do internamento[106,489,659,768] mas,nos nossos doentes, foi menor na diarreia por *Rotavirus* ou por EPEC e maior na diarreia por bactérias invasivas, isoladas ou associadas entre si, excepto por *Shigella* e EIEC.

A duração da diarreia no internamento (3.9±3.0) foi próxima da citada noutros trabalhos.[61,106,419,489,659,727,782] Crianças de menos idade, malnutridas, com desidratação mais grave, hipertermia ou vómitos, e com muco ou sangue nas fezes, tiveram diarreia mais prolongada.

Ao contrário de autores que não observaram variações da duração da diarreia na dependência da sua etiologia,[106,768] nos nossos doentes, **o total de dias de diarreia** e a sua duração no internamento, foi menor na diarreia por *Rotavirus*, isolado ou associado a outros agentes e maior na diarreia por bactérias invasivas, particularmente *Salmonella* e *Campylobacter*, resultados concordantes com os de estudos semelhantes.[489,659] Embora sem significado estatístico, a associação *Rotavirus*/ETEC causou diarreia mais prolongada que, isoladamente, qualquer dos agentes.

Vómitos foram observados em 84.2% das crianças que, em 33.1%, precederam o início da diarreia, indepentemente da sua idade ou situação nutricional, resultados sobreponíveis aos de outros autores.[456,659]

Todos os doentes com *Rotavirus*, excepto 2 com *Rotavirus* associado a bactérias invasivas, tiveram vómitos que, em 48.2% foram o primeiro sinal de doença. A mais frequente associação de vómitos, que tendem a preceder a diarreia, e *Rotavirus*, já anteriormente verificada noutros estudos,[61,106,139,340,369,456,489,501,659,703,727,834,850] leva a pôr em dúvida, na sua ausência, a responsabilização etiológica de *Rotavirus*.

Como referem outros autores,[61,456] os vómitos pararam rapidamente após a admissão hospitalar, enquanto persistia a diarreia por mais 2 a 3 dias. As crianças malnutridas tiveram vómitos durante mais tempo e a sua duração, embora não tenha sido significativamente afectada pela etiologia da diarreia, foi maior em doentes com ETEC, isolada ou associada a *Rotavirus*.

A frequência de **hipertermia** (73.9%), independente da idade dos doentes, foi menor nos malnutridos. Tiveram mais vezes hipertermia, e de forma mais duradoura, crianças com diarreia por bactérias invasivas, particularmente por *Salmonella*, *Campylobacter* ou *Shigella* e menos vezes, e de forma mais fugaz, crianças com diarreia por *Rotavirus* ou de etiologia não esclarecida. Estes resultados contrariam o observado noutros estudos que referem hipertermia com frequência e duração igual em todos os grupos etiológicos,[340,659] ou maior na diarreia por *Rotavirus*.[106,489] No entanto, a sua frequência e persistência foi maior nos doentes com *Rotavirus* associado a bactérias invasivas ou a EPEC do que nos doentes em que apenas identificámos *Rotavirus*.

Alguns autores[110,118,292,320,456,837] referem maior frequência de **sintomatologia respiratória** nas crianças com diarreia por *Rotavirus*, integrando-a no que apelidaram de Síndroma do *Rotavirus*.[456] Nos nossos doentes, de acordo com resultados de outros estudos,[117,340,489,501,659,837] não encontrámos tal associação. Embora 105 (38.6%) doentes tivessem sintomatologia respiratória, a sua frequência e cronologia de aparecimento não foram influenciadas pela etiologia da diarreia. A elevada frequência da sintomatologia respiratória, que predomina nos meses frios, pode explicar-se por infecções concomitantes por outros agentes, como demonstraram estudos serológicos.[837] Explicação alternativa poderia ser o refluxo gastroesofágico, independente da etiologia, que, por mecanismo não infeccioso, causaria irritação da mucosa e sintomas respiratórios.[489]

Dos 24 (8.8%) doentes com o diagnóstico de **otite média aguda**, 15 (62.5%) tinham diarreia por *Rotavirus*, associação também referida por outros autores[293,294,323,456,703,727] e atribuída por Gordon[294] à facilidade de multiplicação do *Rotavirus* no ouvido médio.

É frequente a ocorrência de **convulsões** no decurso da diarreia.[360,567,818] Neste estudo, 21 doentes (7.7%) tiveram convulsões que surgiram imediatamente antes da diarreia em 3 (1.1%), concomitantemente com o seu início em 5 (1.8%) e durante o internamento em 13 (4.8%). Destes 21 doentes, tinham hipertermia ou hipernatremia, factores predisponentes de convulsões, 18 (85.7%) e 5 (22.2%), respectivamente.

Shigella foi o agente etiológico nas 3 crianças com convulsões que precederam o ínicio da diarreia.

Nenhum dos doentes com diarreia por *Campylobacter* teve convulsões, associação referida noutros estudos.[333,447,490]

Não obstante as limitações na sua identificação inerentes à idade dos doentes, **dores abdominais** foram diagnosticadas em 38 (14.0%). A sua frequência não teve correlação com outra sintomatologia ou com qualquer dos parâmetros analíticos

estudados; apenas foi mais frequentes quando as fezes continham sangue. No nosso estudo, a sua ocorrência não foi significativamente influenciada pela etiologia da diarreia, embora, para alguns autores, tenha sido menos frequente na diarreia por *Rotavirus* do que na diarreia por bactérias invasivas.[71,340,542,563]

A dificuldade do diagnóstico de **cefaleias** em crianças dos grupos etários estudados, pode explicar a sua pouca frequência (4.4%) e a correlação positiva com a idade dos doentes. Não observámos associação significativa de cefaleias com a etiologia da diarreia.

A desidratação, avaliada pela perda percentual do peso corporal, foi inferior a 5% em 39.4% dos doentes e, apenas em 7.7%, superior a 10%. As perdas foram maiores em crianças malnutridas e de menos idade, com mais dejecções, que vomitavam e tinham hipertermia. Embora a sua gravidade não fosse significativamente influenciada pela duração da diarreia antes do internamento, possivelmente por que beneficiaram mais tardiamente de cuidados médicos, foi maior nas crianças de origem rural.

Não encontrámos influência significativa da etiologia na gravidade da desidratação que, em alguns trabalhos, foi maior na diarreia por *Rotavirus*.[106,489] No entanto, a associação de *Rotavirus* e ETEC causou desidratação mais grave que qualquer dos agentes, individualmente. *Salmonella wien* causou desidratação mais acentuada que os outros serotipos de *Salmonella*. O serogrupo O86 esteve associado a desidratações menos graves que qualquer dos outro serotipos de EPEC.

Apenas em 9 (3.3%) doentes a duração da desidratação, no internamento, foi inferior a 24 horas. Foi mais prolongada nos doentes malnutridos, de menor idade, com vómitos ou hipertermia e com diarreia por bactérias invasivas, particularmente por *Salmonella*, *Shigella* ou EIEC.

A duração da desidratação foi maior com a associação de *Rotavirus* e ETEC do que com qualquer destes agentes, isoladamente.

- **Terapêutica**

Se exceptuarmos o diagnóstico de otite, não identificámos, nos 92 doentes que fizeram **antibioterapia** antes do internamento, os critérios que a justificaram. A idade das crianças, a sua situação nutricional, o número de dejecções e de dias de diarreia, as características das fezes ou a sintomatologia associada, não influenciaram a frequência da sua prescrição.

A administração de antibióticos, no internamento, a 81 (29.8%) doentes não foi influenciada pela etiologia da diarreia. No entanto, a frequência da sua prescrição, embora sendo discutível na maioria das situações, correlacionou-se, de forma significativa, com alguns parâmetros que poderemos considerar critérios justificativos: infecção sistémica concomitante, menor idade dos doentes e gravidade do défice nutricional e da desidratação.

- **Tempo de internamento**

O tempo médio de internamento (6.2±6.2 dias) foi significativamente maior em crianças com diarreia por bactérias invasivas, particularmente *Campylobacter*, *Salmo-*

nella e *Yersinia* e menor na diarreia por *Rotavirus* ou ETEC, à semelhança do descrito noutros estudos.[659]

A menor idade dos doentes, o sexo masculino, a origem rural e social desfavorável, a gravidade da carência nutricional e da desidratação, constituíram factores de prolongamento do internamento que não teve correlação significativa com a presença de anemia, acidose, níveis séricos de osmolaridade ou de elevação das proteínas de fase aguda.

• • •

As alterações de alguns parâmetros analíticos e a sintomatologia clínica associada à diarreia têm, em alguns doentes, expressão particular condicionada pela etiologia. Contudo, embora possam, eventualmente, sugerir a responsabilização de alguns dos agentes enteropatogénicos, não são específicas, tornando-se indispensável o exame microbiológico das fezes para a identificação da causa da diarreia.

Com este estudo, foi possível conhecer a importância relativa dos agentes infecciosos na etiologia da diarreia aguda infantil. Os resultados, obtidos numa amostra seleccionada, não podem generalizar-se à totalidade da população. Importa realizar estudos semelhantes noutros grupos de crianças para melhor conhecermos o panorama epidemiológico da diarreia no nosso País.

A metodologia utilizada, parte dela inédita no nosso País, por complexa e dispendiosa, não pode generalizar-se ao estudo de todas as crianças com diarreia aguda. Esperámos que o desenvolvimento de novas técnicas microbiológicas, mais baratas e de execução mais simples e rápida, que vem sendo concretizado, torne possível, no estudo de rotina, a identificação dos agentes enteropatogénicos e dos seus mecanismos de acção. Porém, alguns métodos, como a pesquisa de leucócitos e de substâncias redutoras nas fezes, a utilização da aglutinação por latex na identificação de *Rotavirus* e a serotipagem das estirpes de *Escherichia coli*, são facilmente exequíveis, mesmo por quem não tenha treino laboratorial, e proporcionam valiosa informação etiológica e orientação terapêutica

Há ainda um grande grupo de crianças com diarreia aguda, provavelmente de origem infecciosa, mas em que não identificámos agentes enteropatogénicos. Em alguns doentes, poderão ser responsáveis outros vírus, bactérias e parasitas, que não pesquisámos mas com acção patogénica entretanto reconhecida. Porém, é de esperar que, com os ensinamentos de novos estudos epidemiológicos e a evolução da tecnologia de investigação, agentes ainda ignorados ou a que, presentemente, não se reconhece patogenicidade, possam vir a reduzir o grupo de crianças com diarreia de etiologia não esclarecida.

Actualmente, conhecendo-se os mais importantes agentes infecciosos causadores de diarreia aguda e os seus mecanismos de virulência e características epidemiológicas - vias de

transmissão, sazonalidade e população mais susceptível - as atitudes de prevenção são decisivas para o controlo da diarreia aguda. Enquanto se aguarda a possibilidade de utilização de vacinas, algumas já em fase de avaliação no Homem (*Rotavirus*, ETEC e *Shigella*), a profilaxia da diarreia faz-se a nível comunitário:

- fomentando e prolongando o aleitamento materno.
- melhorando o estado nutricional das crianças.
- interrompendo o ciclo de transmissão dos agentes através da melhoria das condições sanitárias e da higiene pessoal das populações.

V - RESUMO E CONCLUSÕES
summary and conclusions

Nos últimos anos houve avanços significativos no entendimento da diarreia das crianças: foram responsabilizados mais agentes infecciosos, clarificados os mecanismos patogénicos e alargados os estudos epidemiológicos.

Perante esses avanços, a importância da diarreia aguda nas crianças e a ausência de trabalhos portugueses, nomeadamente sobre etiologia e epidemiologia, realizámos, durante dois anos, um estudo com o principal objectivo de conhecer a importância dos agentes infecciosos enteropatogénicos na diarreia aguda das crianças da nossa zona. Usámos métodos apropriados, de grande rigor científico, não utlizados em Portugal, até então, em trabalhos desta índole.

Estudámos crianças com menos de 5 anos de idade, divididas em três grupos: 272 crianças com diarreia que necessitaram de internamento, 60 crianças com diarreia tratadas em regime ambulatório e 60 crianças assintomáticas. Nas crianças internadas, estudámos alguns factores que pudessem influenciar a frequência e gravidade da diarreia e tentámos individualizar características próprias de cada etiologia valorizando alguns parâmetros clínicos e analíticos.

Do nosso estudo, fazemos uma súmula e apontámos algumas conclusões:

• ETIOLOGIA

- Em 75.7% das crianças com diarreia aguda que necessitaram de internamento, em 55% das tratadas em ambulatório e em 30% das crianças assintomáticas, identificámos nas fezes agentes infecciosos potencialmente enteropatogénicos.

- Identificámos, pela primeira vez no nosso País, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, ETEC, EIEC e EAEC em fezes de crianças com diarreia aguda.

- ETEC, EIEC, EAEC, *Campylobacter jejuni*, *Yersínia enterocolitica* e *Shigella* só foram identificadas em crianças com diarreia aguda. Uma criança assintomática, do grupo controlo, eliminava *Salmonella*.

- *Rotavirus* foi o agente mais vezes identificado nas fezes dos doentes, internados (40.1%) ou tratados em ambulatório (26.7%), e das crianças assintomáticas (13.3%).

- Os resultados positivos ou duvidosos, obtidos pelo método ELISA na pesquisa de *Rotavirus*, devem sempre ser confirmados com o "blocking test'. Em 13 crianças, o método ELISA deu resultados falsamente positivos.

- Verificámos que o método ELISA, com "blocking test", é mais sensível que a ME na identificação de *Rotavirus* nas fezes e que o método de aglutinação por latex (Rotalex®) tem boa especificidade e sensibilidade, é de execução fácil e rápida e, portanto, parece-nos indicado para o rastreio, na rotina clínica, da diarreia por *Rotavirus*.

- As amostras fecais em que foi negativa, pela ME, a pesquisa de *Rotavirus*, devem ser ultracentrifugadas e novamente observadas.

- Em 33 doentes, caracterizámos 11 perfis electroforéticos do RNA do *Rotavirus*, facto que mostra a grande heterogeneidade das várias estirpes. Um dos electroforetipos tinha 13 bandas de migração traduzindo infecção simultânea por diferentes estirpes de *Rotavirus* ou por uma nova estirpe resultante de recombinação genética espontânea. Sete, destes 33 doentes, não tiveram seroconversão do título de anticorpos antirrotavírus; os *Rotavirus*, neles identificados, pertenciam apenas a 3 electroforetipos: dois eram Ib IIa IIIb IVb, um era Ic IIa IIIc IVb e quatro eram Ic IIb IIIg IVa.

- Na nossa área, predominam (75.8%) *Rotavirus* do subgrupo II, serotipo 1.

- A electroforese do RNA do *Rotavirus* em gel de poliacrilamida mostrou ser uma técnica simples que permitiu estudar, simultaneamente, várias amostras fecais.

- A infecção por *Rotavirus* não causa, necessariamente, doença. A consequência da infecção dependeu da idade e situação imunitária do doente. Foi frequente a identificação de *Rotavirus* em crianças assintomáticas, particularmente nos recém nascidos. Mas, mesmo passado o período de recém nascido, a responsabilização etiológica de *Rotavirus* foi considerada criteriosamente e apoiada no estudo serológico. De facto, apenas em 74% dos doentes com *Rotavirus* nas fezes, observámos seroconversão do título de anticorpos específicos. Só nestes doentes, com segurança, pudemos responsabilizar o *Rotavirus* como causa da diarreia.

- A presença de anticorpos séricos antirrotavírus não é indicador sensível de imunidade à infecção: 38% dos doentes com *Rotavirus* e com seroconversão do título de anticorpos específicos tinham anticorpos doseáveis no momento do internamento.

- A seroconversão do título de anticorpos antirrotavírus foi significativamente mais frequente em crianças sem anticorpos doseáveis na primeira determinação.

- Em 8 (11.6%) doentes ocorreu seroconversão do título de anticorpos antirrotavírus na ausência de *Rotavirus* nas fezes.

- A frequência de anticorpos antirrotavírus é elevada nas crianças assintomáticas: 83.3% dos recém nascidos, 36% das crianças com 5/6 meses de idade e 69% das crianças com 6 ou mais meses de vida. Estes resultados mostram que a infecção por *Rotavirus*, nas crianças da nossa área, é comum e precoce.

- Se exceptuarmos a população geriátrica, não confirmámos a facilidade de contágio de adultos quando em contacto com crianças infectadas por *Rotavirus*.

- Na ausência de estudo serológico não é possível distinguir portadores de doentes assintomáticos.

- A infecção por *Rotavirus* não causa, necessariamente, doença. Pode ser assintomática ou resultar num estado de portador, dependendo da idade do hospedeiro, da sua situação imunitária e, provavelmente, do grau de maturidade intestinal.

- A excreção fecal de *Rotavirus* raramente se prolonga para além de uma semana após o início da diarreia.

- Os recém nascidos de mães imunizadas adquirem, passivamente, anticorpos antirrotavírus.

- *Adenovirus* foi apenas identificado em 1.9% dos doentes internados.

Em estirpes de *Escherichia coli*, isoladas de todos os doentes e das crianças assintomáticas, caracterizámos o serotipo, pesquisámos a produção de enterotoxinas ou de factores de colonização CFA e investigámos a capacidade de invasão e de enteroaderência.

- Estirpes EPEC foram identificadas em 56 (20.6%) dos doentes internados, em 8 (13.3%) dos tratados em ambulatório e em 6 (10%) das crianças do grupo controlo.

- As estirpes EPEC pertenciam a 12 serogrupos, com maior prevalência de O26, O119, O125, O127a, O55 e O111. A frequência dos serogrupos não foi influenciada, significativamente, pela idade, pelo tipo social ou área de residência das crianças.

- Os serogrupos O20aO20c, O86, O111, O112aO112c, O125, O126 e O128 só foram identificados em crianças com diarreia.

- Em nenhuma das estirpes EPEC demonstrámos produção de enterotoxinas.

- Apenas uma estirpe EPEC, do serogrupo O28, tinha capacidade invasiva.

- Demonstrámos enteroaderência em 5 estirpes EPEC, três O111 e duas O26, e em 2 estirpes de *Escherichia coli* sem mecanismo patogénico identificado. Estes resultados sugerem a individualização de um novo grupo de *Escherichia coli* patogénico (EAEC), independente do serotipo.

- Embora as estirpes EPEC predominem, significativamente, nas crianças com diarreia

aguda, a sua responsabilidade etiológica não é clara: estavam associadas a outros agentes patogénicos em 57.8% doentes e foram identificados em 10% de crianças assintomáticas. Importa aguardar novos estudos epidemiológicos e o melhor conhecimento dos mecanismos patogénicos das estirpes EPEC para esclarecer a sua importância na etiologia da diarreia aguda infantil.

- As estirpes ETEC foram identificadas em 4.8% dos doentes internados e em 1.7% dos tratados em regime ambulatório.

- Das estirpes ETEC, 13 (92.9%) eram LT^+/ST^- e 1 (7.1%) LT^-/ST^+.

- Identificámos factores de colonização CFA em 25% das estirpes ETEC, em 5.4% das estirpes EPEC e em 5.7% das estirpes de *Escherichia coli* sem mecanismo patogénico identificado. Estes resultados sugerem a pouca importância dos factores de colonização CFA na virulência das estirpes ETEC.

- As estirpes EIEC são causa pouco frequente de diarreia: foram identificadas em 5 (2.2%) dos doentes internados e em 1 (1.7%) dos tratados em ambulatório.

- Só a utilização simultânea de diversos meios sólidos e caldos de enriquecimento garante eficácia na identificação de *Salmonella* ou *Shigella*.

- *Salmonella* foi, em frequência, o segundo agente bacteriano identificado nas fezes dos doentes com diarreia aguda.

- *Shigella*, *Campylobacter jejuni* e *Yersinia enterocolitica* são causa pouco frequente de diarreia aguda nas crianças da nossa área.

- Em 50% dos doentes em que identificámos *Yersinia enterocolitica*, tal apenas foi possível em caldos de enriquecimento, após 3 semanas.

- *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* poderão ser, eventualmente, causa de diarreia aguda nas crianças.

- *Ascaris lumbricoides*, *Giardia lamblia* e *Trichiura trichiuris* parece não terem importância etiológica na diarreia aguda dos nossos doentes.

- A associação de 2 ou mais agentes enteropatogénicos é frequente, particularmente nos doentes internados.

- Otite média aguda, em 3 doentes, infecção urinária, em 6, intolerância às proteínas do leite de vaca, em 5, e doença de Crohn, em 1, todos sem agente enteropatogénico identificado, podem ter sido a causa da diarreia aguda.

- A elevada percentagem de crianças com diarreia aguda e infecção urinária ou otite, algumas delas sem qualquer agente enteropatogénico nas fezes, impõe a necessidade de investigar, cuidadosamente, processos infecciosos extraenterais.

- Há ainda um grande grupo de crianças com diarreia cuja etiologia não foi identificada. Este espaço poderá, parcialmente, ser ocupado por alguns vírus, bactérias ou parasitas que não pesquisámos mas vêm sendo responsabilizados.

• FACTORES DE INFLUÊNCIA NA ETIOLOGIA DA DIARREIA

- A diarreia deve encarar-se num contexto ecológico largo, abarcando a interrelação agente-hospedeiro e o macro ambiente hospedeiro-sociedade. Prevalece em ecossistemas com condições sanitárias inadequadas e carência de educação e higiene pessoal: 85.5% dos doentes provinham de "classe" social 4 ou 5 da escala de Graffar.

- A melhoria do ambiente sanitário, da higiene pessoal e das condições de habitação contribuirão para a redução da incidência e gravidade da diarreia.

- A frequência de internamentos por diarreia aguda não sofre variações sazonais.

- A frequência de identificação dos agentes enteropatogénicos sofre influência das condições climáticas. Assim, embora apenas os parasitas tenham sido mais vezes observados nos meses mais húmidos, foi nítida a relação entre a identificação de bactérias ou de vírus e a temperatura ambiente: a infecção por *Rotavirus*, EPEC, ETEC ou por *Yersinia enterocolitica*, embora ocorra ao longo de todo o ano, é mais frequente nos meses mais frios; a diarreia por *Salmonella*, embora predomine no tempo quente, tem distribuição heterogénea ao longo do ano; a infecção por *Campylobacter jejuni* não tem variação sasonal evidente.

- A frequência de diarreia sem etiologia esclarecida é maior no tempo quente.

- A frequência e gravidade da diarreia é afectada pela idade das crianças: 74.6% eram lactentes e 94.1% tinham 2 ou menos anos de vida. A frequência relativa de identificação dos agentes é influenciada pela idade dos doentes. Foi signficativo o predomínio de *Rotavirus* em crianças dos 3 aos 12 meses de vida e de *Shigella* e Parasitas nas crianças mais velhas.

- O sexo masculino é factor predisponente para maior frequência e gravidade da diarreia mas, de forma significativa, apenas em crianças no primeiro semestre de vida, passado o período de recém nascido. *Rotavirus*, EPEC e *Salmonella* predominaram, significativamente, em crianças do sexo masculino.

- O leite materno é factor de protecção contra a gravidade da diarreia: apenas 2.9% das crianças tomavam leite materno quando adoeceram. Crianças com regime alimentar diversificado, que era praticado por 71% dos doentes, têm, mais frequentemente, diarreia que obriga a internamento. No entanto, a frequência relativa de identificação dos agentes infecciosos não é influenciada pelo tipo de alimentação das crianças.

- A não utilização, ou a interrupção precoce, do aleitamento materno podem constituir factor de risco de maior incidência e gravidade da diarreia.

- A frequência e gravidade da diarreia é influenciada pela situação nutricional das crianças: 41.2% eram malnutridas, predominatemente lactentes com menos de 3 meses de vida, oriundas de áreas rurais ou urbanas degradadas e de "classes" sociais desfavorecidas. A frequência de diarreia por bactérias invasivas, particularmente *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* e EIEC é maior em crianças com défice nutricional.

- A "classe" social, a origem geográfica, as características da habitação e a situação nutricional não influenciaram, de forma significativa, a frequência de identificação dos agentes enteropatogénicos.

- A frequência relativa de identificação dos agentes enteropatogénicos não foi influenciada pela origem geográfica dos doentes, condições sanitárias da habitação, composição do agregado familiar ou pela "classe social".

- O uso de antibióticos, antes do internamento, que não obedeceu a critérios com justificação evidente, aumentou a frequência de identificação de *Rotavirus*, ETEC e de *Candida albicans*, não influenciou a frequência relativa de identificação de bactérias invasivas e diminuiu a frequência de diarreia de etiologia não esclarecida.

• ESTUDO CLÍNICO E ANALÍTICO

- A etiologia da diarreia não influencia a consistência das fezes.

- A coloração das fezes foi pouco informativa. Porém, fezes brancas foram mais vezes observadas na diarreia por *Rotavirus* e, fezes castanhas, na diarreia por bactérias invasivas.

- Na diarreia por bactérias invasivas, as fezes contêm, mais frequentemente, muco ou sangue.

- A pesquisa de leucócitos nas fezes foi um teste sensível, embora não específico, na responsabilização de bactérias invasivas na etiologia da diarreia.

- Foi frequente o compromisso de absorção de açúcares nas crianças com diarreia aguda, particularmente em lactentes com menos de 6 meses de idade e com diarreia por *Rotavirus*.

- Fezes com pH ácido e com substâncias redutoras foram mais frequentes na infecção por *Rotavirus*.

- A correlação altamente significativa entre a frequência de pH <6 e de substâncias redutoras sugere que, na prática clínica, a determinação do pH das fezes será suficiente para caracterizar a intolerância aos açúcares.

- Independentemente da etiologia da diarreia, 41.1% dos doentes tinham enteropatia exsudativa, apreciável pedo doseamento do teor fecal de antitripsina alfa-1.

- O teor fecal de IgA estava elevado em 48.1% das crianças com diarreia aguda, mais frequentemente na diarreia por *Rotavirus*.

- Em doentes com diarreia da mesma etiologia, foi grande a dispersão dos valores de osmolidade e de concentração dos electrólitos fecais. As maiores concentrações fecais de Na^+ e de Cl^- ocorreram na diarreia por ETEC. Apenas em 10 doentes as fezes tinham características de diarreia secretora.

- A maioria das crianças com diarreia aguda (71.8%) tinham desidratação isonatrémica: 14.3% tinham hipernatremia e 14% tinham hiponatremia. A menor idade dos doentes foi factor predisponente de desidratação hipernatrémica e o défice nutricional de desidratação hiponatrémica.

- A desidratação hipernatrémica foi mais frequente na diarreia por *Rotavirus* e, a desidratação hiponatrémica na diarreia por *Salmonella*.

- Os desvios patológicos da concentração sérica de K^+ foram pouco frequentes nas crianças com diarreia aguda. Contudo, os lactentes de menor idade tinham tendência a ter valores mais elevados de $[K^+]$.

- Valores elevados de ureia foram frequentes (69.5%) em crianças com diarreia aguda, independentemente da etiologia.

- Independentemente da etiologia, hiperuricemia ocorreu em 49.1% das crianças com diarreia aguda, particularmente quando tinham hipertermia ou hipernatremia.

- Hiperglicemia foi observada em 34.2% das crianças com diarreia aguda, particularmente por bactérias invasivas.

- Algumas crianças (14.3%) com diarreia aguda, particularmente na diarreia por *Rotavirus*, tinham valores levados de aminotransferases.

- Hipoproteinemia e hipoalbuminemia foram mais frequentes em crianças malnutridas.

- A frequência de valores elevados de IgA (23.3%), IgG (12.1%) ou IgM (42.4%) foi independente da etiologia da diarreia. O teor sérico de IgG estava, por vezes, elevado em crianças malnutridas.

- A resposta sistémica à infecção enteral, avaliada pelo doseamento de proteínas de fase aguda, foi mais precoce e acentuada na diarreia por bactérias invasivas e mais tardia, ou com maior duração, na diarreia por *Rotavirus*. Não permitiu, no entanto, distinguir infecções víricas de infecções bacterianas.

- As crianças com diarreia por bactérias invasivas tinham tendência a ter valores elevados de leucócitos e de neutrófilos, enquanto que, as com diarreia por *Rotavirus* tinham tendência a ter valores mais elevados de linfócitos e menor número de neutrófilos.

- Independentemente da etiologia, a acidose metabólica ocorreu em 53.7% dos doentes.

- Infecção urinária foi frequente (12.9%) em crianças com diarreia aguda, independentemente da etiologia.

- Apenas em 4.8% das crianças com diarreia aguda, 61.5% das quais com *Rotavirus* nas fezes, apurámos contactos com outros doentes com diarreia.

- A expressão clínica da diarreia não proporcionou elementos orientadores do diagnóstico etiológico. Porém, os vómitos, a sintomatologia respiratória e a otite foram mais frequentes na diarreia por *Rotavirus*, e a hipertermia na diarreia por bactérias invasivas.

- Convulsões ocorreram em crianças com diarreia aguda de qualquer etiologia. No entanto, foram mais frequentes na diarreia por *Shigella*.

- Cefaleias e dores abdominais, de valorização dificultada pela idade dos doentes, ocorreram com frequência não influenciada pela etiologia da diarreia.

- A desidratação foi mais grave e prolongada nos lactentes ou nas crianças malnutridas.

- As crianças com diarreia por ETEC ou *Rotavirus* foram internadas mais precocemente, relativamente ao início da diarreia, do que as crianças com diarreia por bactérias invasivas.

- O total de dias de diarreia foi menor na diarreia por *Rotavirus* e maior na diarreia por bactérias invasivas, particularmente por *Salmonella* ou *Campylobacter*.

- A duração do internamento foi maior nas crianças de menor idade, do sexo masculino malnutridas, de origem rural ou social desfavorecida.

- O tempo de internamento foi mais prolongado na diarreia por bactérias invasivas do que por *Rotavirus* ou ETEC.

- A associação de *Rotavirus* com EPEC causou desidratação mais grave e com maior duração que qualquer dos agentes, individualmente.

- O total de dias de diarreia foi menor na diarreia por *Rotavirus* do que por bactérias invasivas.

Os resultados obtidos só foram possíveis com o recurso a técnicas que, pela sua complexidade e custos, são inacessíveis à grande parte dos laboratórios de microbiologia. Importa a simplificação da metodologia de diagnóstico laboratorial para que se possam generalizar os estudos etiológicos eficazes.

• SUMMARY AND CONCLUSIONS

In the last few years there have been significant advances in the understanding of diarrhoea in children: more infectious agents have been identified, pathogenic mechanisms have been clarified and the number of epidemiological studies has increased dramatically.

In the light of these advances, the importance of acute diarrhoea in children and the lack of Portuguese studies in the areas of aethiology and epidemiology, we undertook a two years study for the main purpose of identifying the infectious agents responsible for acute diarrhoea in children in the North of Portugal. Strict scientific methods were employed which until now had been untried in Portugal in this type of research work.

Three groups of children under 5 years of age were studied, divided into 3 groups: 272 children with diarrhoea needing admittance (group I), 60 children with diarrhoea treated as outpatients (group II) and 60 healthy children (group III). In the group admitted to hospital we studied some of the factors which may influence the frequency and severity of the diarrhoea and tried to correlate clinical and laboratory features with the responsible agent.

From this work we came to following conclusions:

• AETHIOLOGY

- Infectious agents potentially pathogenic to the gut could be identified in the stools of 75.7% of the inpatients (group I), 55% of the outpatients (group II) and in 30% of the children of the control group (Group III).

- ETEC, EIEC, EAEC, *Campylobacter jejuni* and *Yersinia enterocolitica* were identified for the first time in Portugal in the stools from children with acute diarrhoea.

- ETEC, EIEC, EAEC, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica* and *Shigella* could only be isolated from children with acute diarrhoea. In the control group, one assymptomatic child was a carrier for *Salmonella*.

- *Rotavirus* was the single agent most identified in the stools from patients (40.1% of the inpatients and 26.7% of the outpatients) and from the children in the control group (13.3%).

- The positive or doubtful results obtained by the ELISA method for identification of *Rotavirus* should always be confirmed by the "blocking test". The ELISA method gave false positive results in 13 children.

- We verified that the ELISA method, with "blocking test", is more accurate than EM for identification of *Rotavirus* in the stools. Latex agglutination method shown to have good specificity and accuracy, is easy and quick to perform; therefore, it seems to be useful for the detection of *Rotavirus* in daily pratice.

- We have shown that ultracentrifugation of the stools enhanced the sensivity of EM for *Rotavirus* in previously negative samples.

- In 33 of the patients we identified 11 electrophoretic profiles of *Rotavirus* RNA, which shows the great heterogeneity of the various strains. One of the electrophoretypes had 11 bands of migration indicating either simultaneous infection by different strains of *Rotavirus* or by a new strain resulting from spontaneously genetic mutation or recombination. Seven of these 33 patients showed no antirrotavirus antibodies seroconversion; *Rotavirus* identified from these patients belonged to three electrophoretypes only; two were Ib IIa IIIb IVb, one was Ic IIa IIIc IVb and four were Ic IIb IIIg IVa.

- In the North of Portugal *Rotavirus* of the subgroup II, serotype 1, was predominant (75.8%).

- The eletrophoresis of *Rotavirus* RNA on polyacriamid gel is a simple technique that allowed several faecal samples to be studied simultaneously.

- *Rotavirus* infection does not necessarily cause illness. The outcome of infection depends on the age and the patient's immune status. *Rotavirus* was frequently identified in assymptomatic children, particularly in newborns. But, even beyond the newborn period, the role of *Rotavirus* in stools as a cause of diarrhoea must be weighed against the specific antibody titres. In fact, in only 74% of the patients with *Rotavirus* in the stools was seroconversion observed. Only in these patients can we safely consider *Rotavirus* as the cause of diarrhoea.

- A high titre of serum anti-*Rotavirus* antibody cannot safely be assumed to be an accurate indicator of immunity to reinfection: 38% of the patients with *Rotavirus* in stools in whom seroconversion was subsequently demonstrated, had a measurable antibody titre at the time of the admission to hospital.

- Seroconversion of the anti-*Rotavirus* titre was significantly more frequent in children without a measurable antibody titre at the time of the first test.

- *Rotavirus* could not be identified in the stools of 8 (11.6%) patients with specific antibody rising titres.

- High titres of anti-*Rotavirus* antibodies were commonly observed in assymptomatic children: 83.3% of newborn, 36% of infants before 5 and 6 months of age and 69% beyond 6 months. These results show that infection with *Rotavirus* in the North of Portugal is common and occurs early in life.

- By excluding the geriatric population, we did not establish the susceptibility of adult contamination when in contact with *Rotavirus* infected children.

- Bearing in mind that *Rotavirus* are commonly found in the stools in the absence of acute infection, antibodies studies will be needed to distinguish carrier from assymptomatic patients.

- Infection with *Rotavirus* does not necessarily cause illness. It can be assymptomatic or result in a carrier state, depending on the age of the host, his immune status and probably on his degree of intestinal maturity.

- *Rotavirus* faecal excretion rarely lasts for more than a week after the onset of diarrhoea.

- Newborn of immunized mothers acquire antirrotavirus antibodies passively.

- For all strains of *Escherichia coli* isolated from patients and assymptomatic children, we identified the serotypes, examined the production of enterotoxins or CFA colonization factors and investigated the capacity of invasion and enteroadhesion.

- EPEC strains were identified in stools from 56 (20.6%) of the inpatients, 8 (13.3%) of the outpatients and 6 (10%) of the children in the control group.

- EPEC strains belonged to 12 different serotypes with higher prevalence of types O26, O119, O125, O127a, O55 and O111. The frequency of each of the serotypes was not significantly influenced by age, social standard or area of residence of the children.

- Serotypes O20aO20c, O86, O111, O112aO112c, O125, O126 and O128 were only identified in stools of children with diarrhoea.

- In none of the EPEC strains did we demonstrate production of enterotoxins.

- Only one EPEC strain, serotype O28, showed invasiveness.

- Enteroadhesion was observed in 5 EPEC strains, three O111 and two O26, and in 2 *Escherichia coli* strains without identified pathogenic mechanism. These results suggest that a new group of pathogenic *Escherichia coli* may have been identified with enteroadhesion which is independent from the serotype.

- Although EPEC strains predominate significantly in children with acute diarrhoea, their aethiological responsibility is not clear; they were preisent with other pathogenic agents in 57.8% of the patients and were identified in 10% of the assymptomatic children. Further epidemiological studies and a better knowledge of the pathogenic mechanisms of EPEC strains might clarify their importance in the aethiology of acute diarrhoea in children.

- ETEC were identified in 4.8% of the inpatients and in 1.7% of the outpatients.

- Detection of toxin production on ETEC showed that 13 (92.9%) were LT^+/ST^- and 1 (7.1%) LT^-/ST^+.

- We identified CFA colonization factors in 25% of ETEC, in 5.4% of EPEC and in 5.7% of *Escherichia coli* without identified pathogenic mechanism. These results

suggest a minor importance of the CFA colonization factors in the agressiveness of ETEC.

- The EIEC strains were not a frequent cause of diarrhoea; they were identified in 5 (2,2%) of the inpatients and in 1 (1,7%0 of the outpatients.

- *Salmonella* and *Shigella* can only be identified beyond doubt by the simultaneous use of several solid and broth growth media.

- *Salmonella* was the second most frequent bacteria identified in the stools from patients with acute diarrhoea.

- *Shigella, Campylobacter jejuni* and *Yersinia enterocolitica* are not frequent causes of acute diarrhoea in children in the North of Portugal.

- In 50% of samples in which *Yersinia enterocolitica* was identified 3 week of incubation and special broth media were needed.

- *Staphylococcus* and *Candida albicans* could eventually become the cause of acute diarrhoea in children.

- *Ascaris lumbricoides, Giardia lamblia* and *Trichina trichiuris* do not seem to be aethiological important causes of acute diarrhoea in our patients.

- 2 or more agents were frequently found, particularly in the inpatients.

- 15 of the patients without identified pathogenic agents in stools, had other disease that might have accounted for acute diarrhoea: acute otitis media in 3, urinary tract infection in 6, cow's milk protein intolerance in 5 and Crohn's disease in 1.

- The frequent coexistence of acute diarrhoea and urinary tract infection or otitis in children, sometimes without any infectious agent in the stools, shows the importance of a careful search for non-enteral infections in all the patients.

- Even so there was a large group of children with acute diarrhoea whose cause could not be identified. This group might at least in part be due to vírus identified by EM or to bacteria not yet recognized as a cause of acute diarrhoea.

- **FACTORS INFLUENCING THE AETHIOLOGY OF ACUTE DIARRHOEA**

  - Diarrhoea must be looked at in a wide ecological context which involves the agent-host interrelationship and the host-society macro environment. It prevails in ecosystems with bad sanitary conditions and low profiles of education and personal hygiene: 85.5% of the patients belonged to class IV or V (Graffar scale).

  - The improvement of sanitary environment, personal hygiene and housing conditions, will contribute to a reduction in the incidence and importance of diarrhoea.

- The frequency of hospital admittance due to acute diarrhoae showed no seasonal variation.

- The frequency of identification of pathogenic agents is influenced by weather conditions. Even though, only parasites have been found more often in rainy seasons, there was an obvious relationship between identification of bacteria or virus and temperature: the infection by *Rotavirus*, EPEC, ETEC or *Yersinia enterocolitica*, although occurring all year round, was more frequent in cold months; diarrhoea with *Salmonella*, although with a peak incidence in hot weather, had a different distribution throughout the year; infection with *Campylobacter jejuni* had no evident seasonal variation.

- The frequency of diarrhoea without an obvious causative agent was higher in hot weather.

- The frequency and severity of the diarrhoea correlated with the age of the children: 74.6% were infants and 94.1% were two years old or under. The relative frequency in the isolation of agents is influenced by the age of the patients: the predominance of *Rotavirus* was significant in children from 3 to 12 months of age and *Shigella* and parasites in older children.

- Males were predisposed to more frequent and severe diarrhoea, but this was statiscally significant only in the first 6 months of life, after the newborn period. *Rotavirus*, EPEC and *Salmonella* were significantly predominant in males.

- Human milk is a protective factor against the severity of diarrhoea: only 2.9% of the children were breast fed when they became sick. After weaning, children were more prone to diarrhoea needing hospital admission. Nevertheless, the relative frequency of identification of infectious agents is not influenced by the children's feeding habits.

- Lack of or early interruption of breast feeding may be a predisposing factor for higher incidence and severity of diarrhoea.

- The occurence and severity of diarrhoea is influenced by the child's nutritional state: 41.2% suffered from malnutrition, mostly among infants less than 3 months of age, coming from rural areas or degraded urban areas and from lower social classes. The observed relationship between malnutrition and diarrhoea was even more striking where invasive bacteria, namely *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* and EIEC, were concerned.

- The social class, geographic origin, home conditions and nutritional state did not significantly influence the frequency with which pathogenic agents were isolated.

- The relative frequency of identification of pathogenic agents was not influenced by the geographic origin, home conditions, social class or size of family.

- The use of antibiotics before hospital admission, without obvious justification, was associated with a higher identification rate of *Rotavirus*, ETEC and *Candida albicans*, but did not influence the identification rate of invasive bacteria and apparently reduced the percentage cases without identified agent.

• CLINICAL FEATURES

- The aethiology of diarrhoea doesn't influence the consistency of the stools.
- The color of the stools did not correlate with the infectious agent, tough white stools were more often found in *Rotavirus* diarrhoea and brown stools in diarrhoea caused by invasive bacteria.
- Invasive bacteria frequently cause diarrhoea with stools containing mucus or blood.
- The search for leucocytes in the stools was an accurate test, although not specific, in pointing out invasive bacteria as the ethiology for the diarrhoea.
- Childern with acute diarrhoea frequently had sugar intolerance, especially infants under 6 months of age or with *Rotavirus* in the stools.
- Reducing substances or low pH stools were more frequently found with *Rotavirus* infection.
- The highly significant correlation between the frequency of acid pH and reducing substances suggests that, in clinical pratice, the pH evaluation of the stools will suffice to detect sugar malabsorption.
- 41.1% of the patients had protein-losing entheropathy as revealed by measurement of faecal alfa-1 antitrypsin, regardless of the aethiology of the diarrhoea.
- 48.1% of the children with acute diarrhoea had high levels of IgA in the stools, especially when *Rotavirus* was involved.
- In patients with diarrhoea of the same aethiology, there was a large range of values for stool osmolality and electrolyte concentration. The stool content of Na^+ and Cl^- was highest in diarrhoea by ETEC. Only 10 patients had electrolyte levels suggesting secretory diarrhoea.
- The majority of children with acute diarrhoea (71.8%) had isonatraemic dehydration: 14.3% had hypernatraemia and 14% had hyponatraemia.The young age of the patients was a predisposing factor for hypernatraemic dehydration while malnutrition presdisposed them to hyponatremia.
- Hypernatraemic dehydration was more common in *Rotavirus* diarrhoea while hyponatremic dehydration was a feature in diarrhoea by *Salmonella*.

- Abnormal plasma levels of K^+ were uncommon in acute diarrhoea. Nevertheless, in younger infants there was a trend to higher levels of K^+.

- High levels of ureia were frequent (69.5%) in children with diarrhoea, regardless of its aethiology.

- Raised levels of uric acid occurred in 49.1% of the children with acute diarrhoea, particularly when there was fever or hypernatremia, regardless of the aethiology.

- Raised blood glucose was present in 34.2% of the children with acute diarrhoea, particularly when invasive bacteria were concerned.

- Some children (14.3%) with acute diarrhoea, particularly with *Rotavirus* had raised aminotransferase.

- Hypoproteinaemia and hypoalbuminaemia were more common in malnourished children.

- High levels of IgA (23.3%), IgG (12.1%) or IgM (42.4%) were unrelated to the aethiology of the diarrhoea. The serum level of IgG was sometimes raised in malnourished children.

- Systemic response to bowel infection, as assessed by measuring acute phase proteins, occured earlier and was more evident in diarrhoea by invasive bacteria and delayed or prolonged in the diarrhoea by *Rotavirus*. Nevertheless, it did not allow the distinction between viral and bacterial infections.

- Children with diarrhoea due to invasive bacteria had higher white blood counts with neutrophilia whilst those with viral diarrhoea had raised lymphocytes and lower neutrophil counts in the blood.

- Metabolic acidosis occured in 53.7% of the patients, regardless of the aethiology.

- Urinary tract infection was frequent (12.8%) in children with acute diarrhoea, unrelated to the aethiology.

- Only 4.8% of the children with acute diarrhoea, 61.5% of which had *Rotavirus* in the stools, had known contacts with other patients with diarrhoea.

- The clinical features gave no clues to establishing the aethiology of the diarrhoea. Nevertheless, vomiting, respiratory symptoms and otitis were more frequently associated with *Rotavirus* diarrhoea, while fever occurred more commonly in diarrhoea by invasive bacteria.

- Convulsions were observed in diarrhoea from any agent. They were, however, more frequent in diarrhoea by *Shigella*.

- Headache and abdominal pain were difficult to evaluate due to the patients' age, but had no relation to the aethiology.

- Dehydration was more severe and prolonged in infants and malnourished children.

- Children with diarrhoea by ETEC or *Rotavirus* were admitted to hospital earlier in relation to the onset of symptoms than children with diarrhoea due to invasive bacteria.

- The total number of days of diarrhoea was less with *Rotavirus* than with invasive bacteria, being largest in *Salmonella* or *Campylobacter*.

- The duration of hospitalization was longer in younger children, malnourished or males, of rural origin or socially deprived. Considering the aethiology, hospitalization was longer with invasive bacteria than *Rotavirus* or ETEC.

- The association of *Rotavirus* and ETEC caused a prolonged and more severe dehydration than any of the two agents separately.

- *Rotavirus* caused diarrhoea of shorter duration than invasive bacteria.

The results were made possible only by the use of methods which, being complex and expensive, are beyond the reach of most microbiology laboratories. The simplification of laboratory diagnostic techniques is needed in order to extend the efficient aethiological studies.

VI - BIBLIOGRAFIA

1 Abbott MR, Cloonan MJ, Montgomery J, Smith DD. Pathogen detected in the faeces of children with diarrhoea in a Sydney hospital. *Med J Aust* 1984;14:26-28.

2 Adlerb R, Robinson R, Pazdral P, Grushkin C. Hyperuricemia in diarrheal dehydration. *Am J Dis Child* 1982;136:211-213.

3 Agbonlahor DE, Odugbemi TO, Dosunmu-Ogunbi O. Isolation of species of *Yersinia* from patients with gastroenteritis in Nigeria. *J Med Microbiol* 1983;16:93-96.

4 Agbonlahor DE, Odugbemi TO. Enteropathogenic, enterotoxigenic and enteroinvasive *Escherichia coli* isolated from acute gastroenteritis patients in Lagos, Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1982;76:265-267.

5 Aggarwal A, Bhatia A, Naik SR, et al.. Variable virulence of isolates of *Giardia lamblia* in mice. *Ann Trop Med Parasitol* 1983;77:163-167.

6 Aguiar A, Ferreira F, Nascimento MSJ, Amil J, Ribeiro T, Santos NT, Sousa JC. Pesquisa de *Rotavirus* nas fezes por aglutinação com Latex (Comparação com ELISA e Microscopia Electrónica). *Rev Port Pediatr* 1986;17:165-168.

7 Aguiar A, Guerra A, Nunes C, Lima R. Classificação nutricional, por vários métodos, de uma população, dos 0 aos 59 meses, hospitalizada. (Aguarda publicação).

8 Aguiar A, Valente I, Veloso D. Diarreia aguda: Valorização de alguns parâmetros. *Jornal do Médico* 1986;2162:320-325.

9 Agus SG, Dolin R, Wyatt RG, Tousimis AJ, Nothrup RS. Acute infectious nonbacterial gastroenteritis: intestinal histopathology: histologic and enzymatic alterations during illness produced by the Norwalk agent in man. *Ann Int Med* 1973;79:18-25.

10 Aimoto S, Takao T, Shimonishi Y, et al.. Amino-acid sequence of heat-stable enterotoxin produced by human enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Eur J Biochem* 1982;129:257-263.

11 Albrey MB, Murphy AM. *Rotavirus* and acute gastroenteritis of infants and children. *Med J Aust* 1976;1:82-85.

12 Alderman MH, Davis RP. Hyperuricemia in starvation. *Pro Soc Exp Biol Med* 1965;118:790-792.

13 Amaral JMV, Espinosa L, Lopes W. Alimentação com leite materno na área de Lisboa. *Rev Port Pediatr* 1979;10:155-158.

14 Ament ME, Rubin CE. Relation of giardiasis to abnormal intestinal structure and function in gastrointestinal immunodeficiency syndromes. *Gastroenterology* 1972;62:216-226.

15 Amil J, Aguiar A. Malnutrição e infecção (em publicação).

16 Amin NM. Campylobacter-caused diarrhea. Who is at risk? Whay to watch for? *Posgrad Med J* 1984;75:96-97.

17 Andersen J. A study of dyserntery in the field with special reference to the cytology of baccilary dysentery and its bearing on early and acute diagnosis. *Lancet* 1921;2:998-1002.

18 Anonymous. Breast is best. *Lancet* 1976;2:412.

19 António AM, Nereu V, Castanheira J, Domingos A, Mota HC. Desidratação hipernatrémica. *Rev Port Pediatr* 1979;10:340-335.

20 Aperia A, Marin L, Zetterström R, et al.. Salt and water homeostasis during oral rehydration therapy. *J Pediatr* 1983;103:364-369.

21 Appleton H, Buckley M, Robertson MH, Thom BT A search for faecal viruses in new-born and other infants. *J Hyg* 1978;81:279-283.

22 Arias CF,Lopez S, Espejo RT. Gene protein products of SA11 simian *Rotavirus* genome. *J Virol* 1982;41:42-50.

23 Aristegni J, Cisterna R, Rojo P, Delgado A. Gastro-entérite aigue à *Campylobacter jejuni* chez l'enfant. Etude de 23 cases. *Arch Fr Pediat* 1983;40:621-624.

24 Arnold L. Diarrhea in infants. *Arch Pediatr* 1927;44:71-85.

25 Asheley CR, Caul EO, Paver WK. *Astrovirus*-associated gastroenteritis in children. *J Clin Pathol* 1978;31:939-943.

26 Avendaño LF, Caldéron A, Macaya J, Prenzel I, Duarte E. *Rotavirus* viral RNA electrophoresis in hospitalized infants with diarrhea in Santiago, Chile. *Pediat Res* 1982;16:329-330.

27 Avilez MF. Diagnóstico rápido de *Rotavirus* humanos en fezes pelo teste Rotalex: comparação com os resultados obtidos por microscopia electrónica. *Rev Port D Inf* 1984;2:93-95.

28 Avillez MF, Sequeira J, Gabriela AS, Ladeira F. Incidência de partículas virais em crianças com diarreia atendidas na urgência de Pediatria do Hospital de Santa Maria. *A criança* 1985;2:157-163

29 Avillez MF. Pesquisa de anticorpos anti-rotavirus. *Arq I N S* 1983;8:79-83.

30 Balakrishman S, Hussein HJ. Breast feeding in Kelantan. *J Trop Pediatr* 1977;23:80

31 Baldini MM, Kapper JB, Levine MM, Candy DCA, Moon HW. Plasmid-mediated adhesion in enteropathogenic *Escherichia coli*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1983;2:534-538.

32 Baloda SB, Faris A, Krovacek K, Wadstom T. Cytotonic enterotoxins and cytotoxic factors produced by *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium*. *Toxicon* 1983;21:785-796.

33 Barnes GL, Bishop RF, Townley RW. Microbial flora and disaccharidase depression in infantile gastroenteritis. *Acta Paediatr Scand* 1984;63:423-426.

34 Barnes GL, Hewson PH, McLellan JA, Doyle LW, Knoches AML, Kitchen WH, Bishop RF. A randomised trial of oral gammaglobulin in low-birth-weigth infants infected with *Rotavirus*. *Lancet* 1982;1:1371-1373.

35 Barnes GL, Towneley RRW. Duodenal mucosa damage in 31 infants with gastroenteritis. *Arch Dis Child* 1973;48:343-345.

36 Barnett BB, Spendlove RS, Clark ML. Effect of enzymes on *Rotavirus* infectivity. *J Clin Microbiol* 1979;10:111-113.

37 Bartolozzi G, Fransceschini E, Cividalli S, Braito A, Dei R, Urbano P. Inquadramento etiopatogenetico delle enteriti acute virali. *Pediatr Med Chir* 1982;4:269-274.

38 Baudon JJ. Les diarrhés des premiers mois. Diagnostic et attitude thérapeutique. *Rev Prat* 1981:31:1683-1689.

39 Beards GM, Bryden AS. Evaluation of a new enzyme-linked immunosorbent assay test for *Rotavirus* antigen in faeces. *J Clin Pathol* 1981;34:1388-1391.

40 Beards GM, Pilfold JM, Thouless ME, Flewtt TH. *Rotavirus* serotypes by serum neutralization. *J Med Virol* 1980;5:231-237.

41 Beards GM. Polymorphism of genomic RNAs within *Rotavirus* serotypes and subgroups. *Arch Virol* 1982;74:65-70.

42 Bellamy K, Gardner PS, Hambling MH, Bradburne AF. Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of human *Rotavirus* in stools. *J Virol Methods* 1983;7:65-72.

43 Berger R, Hadziselimovic F, Just M, Reigel F. Influence of breast milk on nosocomial *Rotavirus* infections in infants. *Infection* 1984;12:171-174.

44 Bergstrand CG, Winblad S. Clinical manifestations of infection with *Yersinia enterocolitica* in children. *Acta Paediatr Scand* 1974;63:875-877.

45 Bernier JJ, Florent C, Desmazures C, Aymes C, L'Hirondel C. Diagnosis of protein-losing enterophathy by gastrointestinal clearance of alfa1-antitrypsin. *Lancet* 1978;2:763-764.

46 Berry JR, Bettelheim KA, Gracey M. Identification of enterotoxigenic *Escherichia coli* by serogrouping. *Lancet* 1982;1:1124-1125.

47 Best WH. Epidemic diarrhea of the newborn. JAMA 1938;110:1155-1158.

48 Birch CJ, Lechmann NI, Hawker AJ, Marshall JA, Gust ID. Comparison of electron microscopy, enzyme-linked immunosorbent assay, solid-phase radioimmunoassay and indirect immunofluorescence for detection of human *Rotavirus* antigen in faeces. *J Clin Pathol* 1979;32:700-705.

49 Bishop RF, Barnes GL, Cipriani E, Lund JS. Clinical immunity after neonatal *Rotavirus* infection. A prospective longitudinal study in young children. *N Engl J Med* 1983;309:72-76.

50 Bishop RF, Cameron DS, Veenstra AA, Barnes GL. Diarrhea and *Rotavirus* infection associated with different regimens for posnatal care of newborn babies. *J Clin Microbiol* 1979;9:525-529.

51 Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH, Ruck BJ. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from chidren with acute nonbacterial gastroenteritis. *Lancet* 1973;2:1281-1283.

52 Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH, Ruck BJ. Detection of a new virus by electron microscopy of faecal extracts from children with acute gastroenteritis. *Lancet* 1974;1:149-151.

53 Black RE, Brown KH, Becker S, Abdul Alim ARM, Huq I. Longitudinal studies of infectious diseases and physical growth of children in rural Bangladesh. *Am J Epidemiol* 1982;115:315-324.

54 Black RE, Brown KH, Becker S. Epidemiology of acute diarrhea in childhood: comments. In: Bellanti JA, ed. *Acute Diarrhea: Its Nutritional Consequences in Children.* New York: Nestlé, Vevey/Raven Press. 1983:23-27.

55 Black RE, Brown KH, Becker S. Malnutrition is a determining factor in diarrheal duration, but not incidence, among children in a longitudinal study in rural Bangladesh. *Am J Clin Nutr* 1984;39:87-94.

56 Black RE, Greenberg HB, Kapikian AZ, Brown KH, Becker S. Acquisition of serum antibody to *Norwalk* and *Rotavirus* and relation to diarrhea in a longitudinal study of young children in rural Bangladesh. *J Infect Dis* 1982;145:483-489.

57 Black RE, Jackson RJ, Tsai T, Medvesky M, Shayegani M, Feeley JC, MacLeod KIE, Wakelee AM. Epidemic *Yersinia enterocolitica* infection due to contaminated chocolat milk. *N Engl J Med* 1978;298:76.

58 Black RE, Merson MH, Huq I. Incidence and severity of *Rotavirus* and *Escherichia coli* diarrhea in rural Bangladesh: implications for vaccine development. *Lancet* 1981;1:14.

59 Black RE, Merson RH, Rahman AM, Yunus M, Alim AA, Huq I, Yolken RH, Curlin GT. A two-years study of bacterial, viral and parasitic agents associated with diarrhea in rural Bangladesh. *J Infect Dis* 1980;142:660-664.

60 Black RE, Mollby R, Stintzing G, Wadstrom T, Habte D. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and other gram-negative bacteria of infantile diarrhoea: surface antigens, hemagglutinins, colonization factor and loss of enterogenicity. *J Infect Dis* 1980;142:318-327.

61 Blacklow NR, Cuckor G. Viral gastroenteritis. *N Engl J Med* 1981;304:397-406.

62 Blacklow NR, Cukor G. Norwalk virus: a major cause of epidemic gastroenteritis. *Am J Public Health* 1982;72:1321-1323.

63 Blacklow NR, Echeverria P, Smith DH. Serological studies with reovirus-like agent. *Infect Immun* 1976;13:1563-1566.

64 Blanco J, González EA, Bernárdez I, Varela BR. Enterotoxigenic and enteropathogenic *Escherichia coli* in Galicia (north-west Spain). *Med Microbiol Immunol* 1983;172:165-169.

65 Blaser MJ, Berkowitz ID, LaForce FM, Cravens J, Reller LB, Wang Wll. *Campylobacter* enteritis: Clinical and epidemilogical features. *Ann Int Med* 1979;91:179-185.

66 Blaser MJ, Checko P, Bopp C, Bruce A, Hughes JM. *Campylobacter* enteritis associated with foodborne transmission. *Am J Epidemiol* 1982;116:886-894.

67 Blaser MJ, Cravens J, Powers BW, Wang WL. *Campylobacter* enteritis associated with canine infection. *Lancet* 1978;2:979-981.

68 Blaser MJ, LaForce FM, Wilson NA, Wang WLL. Reservoirs for human campylobacteriosis. *J Infect Dis* 1980;141:665-669.

69 Blaser MJ, Parsons RB, Wang WL. Acute colitis caused by *Campylobacter fetus ss. jejuni. Gastroenterology* 1980;78:448-453.

70 Blaser MJ, Reller LB. *Campylobacter enteritis. N Engl J Med* 1981;305:1444-1452.

71 Blaser MJ, Wells JG, Feldman RA, Pollard RA, Allen JR. *Campylobacter* enteritis in the United States. A multicenter study. *Ann Int Med* 1983;98:360-365.

72 Blaser MS, Glass RI, Huq MI, Stoll B, Kbriya GM, Alim AR. Isolation of *Campylobacter fetus subsp. jejuni* from Bangladeshi children. *J Clin Microbiol* 1980;12:744-747.

73 Blenkinsopp WK, Gibson JA, Haffenden GP. Giardiasis and several jejunal abnormality. *Lancet* 1978;1:994.

74 Bokkenheuser JD, Richardson NJ, Brynet JH, Roux DJ, Schutte AB, Koornhof HJ, Freiman I, Hartman E. Detection of enteric campylobacteriosis in children. *J Clin Microbiol* 1979;9:227-232.

75 Bortulussi R, Syzmanski M, Hamilton R, Midleton P. Studies on the etiology of acute infantile diarrhoea. *Pediatr Res* 1974;8:379.

76 Both GW, Siegman LJ, Bellamy AR, Ikegami N, Shatkin AJ, Furvichi Y. Comparative sequence analysis of *Rotavirus* genomic segment 6- the gene specifying viral subgroups 1 and 2. *J Virol* 1984;51:97-101.

77 Bottone EJ. *Yersinia enterocolitica*: a panoramic view of a charismatic microorganism. *Crit Rev Microbiol* 1977;5:211-241.

78 Bottone EJ. Yersinia enterocolitica. In: Marcel Dekker, ed. *Infectious diarrheal diseases: current concepts and laboratory procedures*. New York, 1984:13-48.

79 Boulesteix J. Diarrhées aiguës du nourisson et de l'enfant: diététique et réalimentation. *Diététique Infantile* 1985;35:595-602.

80 Brandt CD, Kim HW, Rodriguez WJ, Arrobio JO, Jeffries BC, Stallings EP, Lewis C, Miles AJ, Chanock RM, Kapikian AZ, Parrott RH. Pediatric viral gastroenteritis during eight years of study. *J Clin Microbiol* 1983;18:71-78.

81 Brandt CD, Kim HW, Rodriguez WJ, Thomas L, Yolken RH, Arrobio JO, Kapikian AZ, Parrott RH, Chanock RM. Comparison of direct electron microscopy, immune electron microscopy, and *Rotavirus* enzyme-linked immunosorbent assay for detection of gastroenteritis viruses in children. *J Clin Microbiol* 1981;13:976-981.

82 Brandt CD, Kim HW, Yolken RH, Kapikian Az, Arrobio JO, Rodriguez WJ, Wyatt RG, Chanock RM, Parrott RH. Comparative epidemiology of two *Rotavirus* serotypes and other viral agents with pediatrics gastroenteritis. *Am J Epidemiol* 1979;110:243-254.

83 Brandt CD, Kim W, Rodriguez WJ, Arrobio JO, Jefferies BC, Stallings EP, Lewis C, Miles AJ, Gardner MK, Parrot RH. *Adenovirus* and pediatric gastroenteritis. *J Infect Dis* 1985;151:437-443.

84 Bray J. Isolation of antigenically homogeneous strains of *Bact. coli neopolitanum* from summer diarrhoea of infants. *J Pathol Bacteriol* 1945;57:239-247.

85 Bricout F, Dussaix E, Nicolas JC, Huraux JM, Befekadu E. Diarrhés infantiles et *Rotavirus*. Etude sérologique rétrospective (1971-1975). *Path Biol* 1977;25:43-45.

86 Bridger JC, Woode GN. Characterization of two particle types of calf *Rotavirus*. *J Gen Virol* 1976;31:245-250.

87 Brown RE. Interaction of nutrition and infection in clinical practice. *Ped Clin N Am* 1977;24:241-252.

88 Brown RE. Poverty and health in the United States. *Clin Pediatr* 1969;8:495.

89 Bruce D, Zochwski W, Ferguson IR. *Campylobacter* enteritis. *Br Med J* 1977;2:1219

90 Brunton TWA, Heggie D. *Campylobacter* associated diarrhoea in Edinburgh. *Br Med J* 1977;2:956

91 Bryden AS, Davies HA, Hadley RE, Flewett TH, Morris CA, Oliver P. *Rotavirus* enteritis in the West Midlands during 1974. *Lancet* 1974;2:241-243.

92 Bryden AS, Thoules ME, Hall CJ, Flewtt TH, Wharton BA, Mathew PM, Craig I. *Rotavirus* infection in a special-care baby unit. *J Infection* 1982;4:43-48.

93 Bullen JJ. Human milk and gut infection in the newborn. *Br J Hosp Med* 1977;18:220-231.

94 Burke JA. Giardiasis in childhood. Am J Dis Child 1975;129:1304-1310.

95 Burke V, Gracey M, Robinson J. The microbiology of childhhod gastroenteritis: *Aeromonas species* and other infective agents. *J Inf Dis* 1983;148:68-74.

96 Butzler JP, Alexander M, Segers A, Cremer N, Blum D. Enteritis, abcess, and septicemia due to *Yersinia enterocolitica* in a child with thalassemia. *J Pediatr* 1978;93:619-621.

97 Butzler JP, Skirrow MB. *Campylobacter* enteritis. *Clin Gastroenterol* 1979;8:737-765.

98 Butzler JP. Campylobacter enteritis. In: Takeda Y, Miwatani T, ed. *Bacterial Diarrhea diseases*. Tokyo: KTK Scientific Publishes, 1985:223-239.

99 Butzler JP. *Campylobacter* enteritis. *Infection* 1982;10 Suppl.2:67-69.

100 Cabrerizo PD, Cervantes PA, Esteban ZI, Rodriguez LF. Gastroenterites por *Campylobacter jejuni*. Casuistica de un año. *An Esp Pediat* 1983;19:452-458.

101 Calderon MA, Avendano FL, Palma VX. Deteción de *Rotavirus* en lactantes con diarrea aguda, hospitalizados e ambulatorios, en Santiago de Chile. *Bol Med Hosp Inf Mex* 1982;2:89-91.

102 Cameron DJS, Bishop RF, Davidson GP, Townley RRW, Holmes IH, Ruck BJ. New virus associated with diarrhoea in neonates. *Med J Aust* 1976;1:85-86.

103 Candy DA, Larcher VF, Tripp JH, Harries JT, Harvey BM, Soothill JF. Yeast opsonisation in children with chronic diarrhoeal states. *Arch Dis Chil* 1980;55:189-193.

104 Candy DCA, McNeish AS. Human *Escherichia coli* diarrhoea. *Arch Dis Child* 1984;59:395-396.

105 Cantey JR, Lushbaugh WB, Inman LR. Attachment of bacteria to intestinal epithelial cells in diarrhea caused by *Escherichia coli* strain RDCE-1 in the rabbit: stages and role of capsule. *J infect Dis* 1981;143:219-230.

106 Capano G, Guandalini S, Guarino A, Caprioli A, Falvo V, Giraldi V, Ruggeri FM, Vairano P, Vegnente A, Vairo U, Rubino A. Enteric Infections, cow's milk intolerance and parenteral infections in 118 consecutive cases of acute diarrhoea in children. *Eur J Pediatr* 1984;142:281-285.

107 Carke SKR, Caul EO, Egglestone SI. The human enteric coronaviruses. *Postgrad Med J* 1979;55:135-142.

108 Carlson B, Gotherfors L, Ahlsted S, et al.. Studies on *Escherichia coli*, antigen specific antibodies in human milk: maternal serum an cord blood. *Acta Paediatr Scand* 1976;65:216

109 Carlson JAF, Middleton PJ, Szymanski MT, Huber J, Petric M. Fatal *Rotavirus* gastroenteritis.

An analysis of 21 cases. *Am J Dis Child* 1978;132:477-479.

110 Carr MR, Donald G, McKendrick W, Spyridakis T. The clinical features of infantile gastroenteritis due to *Rotavirus*. Scand J Infect Dis 1976;8:241-243.

111 Carter P, Coilins F. The route of enteric infection in normal mice. *J Exp Med* 1974;139:1189-1203.

112 Carter PB, Zahorchak RJ, Brubaker RR. Plague virulence antigens from *Yersinia enterocolitica*. Infect Immun 1980;28:638-640.

113 Caul EO, Paver WK, Clarke SKR. Coronavirus particles in faeces from patients with gastroenteritis. *Lancet* 1975;1:1192.

114 Cevenini R, Rumpianesi F, Mazzaracchio R, Donati M, Falcieri E, Lazzari R. Evaluation of a new latex agglutination test for detecting human *Rotavirus* in faeces. *J Infection* 1983;7:130-133.

115 Cevenini R, Varoli O, Rumpianesi F, Mazarrachio R, Nanetti A, LaPlaca M. A two years longitudinal study on the etiology of acute diarrhea in joung children in Northen Italy. *Microbilogica* 1985;8:51-58.

116 Champsaur H, Goldszmith D, Bach C. Physiopathologie et classification des diarrhées infectieuses. *Rev Prat* 1982;32:995-1008.

117 Champsaur H, Henry-Amar M, Goldszmidt D, Prevot 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* 1984;149:675-682.

118 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* 1984;149:667-674.

119 Champsaur H. Gastro-entérite infantile à *Rotavirus*. *Ann Pediat* 1979;26:26-30.

120 Chandra RK, Newberne PM, eds. *Nutrition, immunity, and infection. Mechanisms of interactions*. New York: Plenum Press. 1977, cap. 4.

121 Chandra RK, Newberne PM. *Nutrition, Immunity and infection: mechanisms of interaction*. New York: Plenum Press, 1977.

122 Chandra RK. Malnutrtion and immunocompetence: an overview. In: Bellanti JA,ed.. *Acute Diarrhea: Its Nutritional Consequences in Children*. New York: Nestlé, Vevey/Raven Press, 1983:131-149.

123 Chandra RK. Malnutrition. In: Chandra RK, ed.. *Primary and Secondary Immunodeficiency Disorders*. Edinburgh: Churchill livingstone, 1982.

124 Chandra RK. Immunodeficiency in undernutrition and overnutrition. *Nutr Rev* 1981;39:225-231.

125 Chandra RK. Marginal malnutrition and immunocompetence. *Prog Clin Biol Res* 1981;77:261-265.

126 Chandra RK. Prospective study of the effect of breast feeding on incidence of infection and allergy. *Acta Paediatr Scand* 1979;68:691-694.

127 Chandra RK. Reduced secretory antibody response to live attenuated measles and poliovirus vaccines in malnourished children. *Br Med J* 1975;2:538-585.

128 Chandra RK. Serum complement and immunoconglutinin in malnutrition. *Arch Dis Child* 1975;50:225-228.

129 Chapoy P, Quicili M, Exbrayat C, Dor AM, Louchet E. La giardiase intestinale chez l'enfant. Mechanismes de l'entéropathogénicité du parasite. *Arch Fr Pediat* 1982;39:149-154.

130 Chowdhury MN. *Campylobacter jejuni* enteritis: a review. *Trop Georg Med* 1984;36:215-22.

131 Chretien HJ, Garagusi VF. Current management of fungal enteritis. *Med Clin N Am* 1982;66:675-688.

132 Christenson B, Ringner A, Blucher C, Billaudelle H, Gundtoft KN, Eriksson G, Bottiger M. An outbreak of *Campylobacter* enteritis among the staff of a poultry abattoir in Sweden. *Scand J Infect Dis* 1983;15:167-172.

133 Chrystie IL, Totterdell BM, Backer MJ, Scopes JW, Banatvala JE. *Rotavirus* infections in a maternity unit. Lancet 1975;2:79-80.

134 Chrystie IL, Totterdell BM, Banatvala JE. Asymptomatic endemic *Rotavirus* infections in the newborn. *Lancet* 1978;1:1176-1178.

135 Clark D, Karen C Use of serum C-reactive protein in differentiating septic from aseptic meningitis in children. *J Pediatr* 1983;102:718-720.

136 Clark HE, Dolan KT, Horton-Slight P, Palmer J, Plotkin SA. Diverse serological repense to *Rotavirus* infections of infants in a single epidemic. *Pediatr Infect Dis* 1985;4:626-631.

137 Clarke IN, McCrae MA. Structural analysis of electrophoretic variation in the genome profiles of *Rotavirus* field isolates. *Infect Immun* 1982;36:492-497.

138 Clausen CR, Christie DL. Chronic diarrhea in infants caused by adherent enteropathogenic *Escherichia coli*. *J Pediatr* 1982;100:358-361.

139 Clemens JD, Ahmed M, Butler T, Greeough WB, Sack DA, Stanton BF. *Rotavirus* diarrhoea: an expanding clinical spectrum. *J Trop Med Hyg* 1983;86:117-122.

140 Conklin RH, et al.. Occurence of viral particles in diarrhea: Houston, Texas and Guatemala. *N Engl J Med* 1975;292:644-645.

141 Costello JP, Lind HE. Epidemic of nursery diarrhea. *South Afr Med J* 1939;32:620-622.

142 Coulson BS, Fowler KJ, Bishop RF, Cotton RCH. Neutralizing monoclonal antibodies to human *Rotavirus* and indications of antigenic drift among strains from neonates. *J Virol* 1985;-54:14-20.

143 Cravioto A, Gross RJ, Scotland SM, Rowe B. An adhesive factor found in strains of *Escherichia coli* belonging to the traditional infantile enteropathogenic serotypes. *Curr Microbiol* 1979;3:95-99.

144 Creighton C. *A history of epidemics in Britain.* In: Barnes and Noble Vol 2. 2snd ed. New York,1975:747-792.

145 Crewe E, Mutphy AM. Neonatal *Rotavirus* infection. *Med J Aust* 1980;1:61-63.

146 Crossley JR, Elliot RB. Simple method for diagnosing protein-losing enteropathies. *Br Med J* 1977;1:428-429.

147 Crowley N, Fulton F, Downie AW, Wilson GS. Epidemic neonatal diarrhoea in maternity hospitals. I. Bacteriological aspects. *Lancet* 1941;2:590-594.

148 Cruickshank JG, Zilberg B, Axton JHM. Virus particles and gastroenteritis in black and withe children in Rhodesia. *S Afr Med J* 1975;49:859-862.

149 Cruickshank JG, Zilberg B. Winter diarrhea and rotaviruses in Rhodesia. *S Afr Med J* 1976;50:1895-1896.

150 Cruz JR, Arevalo C. Levels of human milk-specific immunoglobulin A antibodies during lactation. *Pediatr Infect Dis* 1986;5:S148-S151.

151 Cruz JR, Garcia B, Urrutia JJ, et al.. Food antibodies in milk from Guatemalan women. *J Pediatr* 1981;99:600-602.

152 Cubitt WD, Holzel H. An outbreak of *Rotavirus* infection in a longstay ward of a geriatric hospital. *J Clin Pathol* 1980;33:306-308.

153 Cubitt WD, Mcswiggan. *Calicivirus* gastroenteritis in North West London. *Lancet* 1981;2:975-977.

154 Cuckor G, Blacklow NR, Capozza FE, Panjvani ZFK, Bednarek F. Persistence of antibodies to *Rotavirus* in human milk. *J Clin Microbiol* 1979;9:93-96.

155 Cukor G, Blacklow NR. Human viral gastroenteritis. *Microbiol Rev* 1984;48:157-179.

156 Cunnhigham SS. Morbidity in breast-fed and artificially fed infants. *J Pediatr* 1979;95:685-689.

157 Dabard J, Dubos F, Martinet L, Ducluzeau R. Experimental reproduction of neonatal diarrhea in young gnotobiotic hares simultaneously associated with *Clostridium difficile* and other *Clostridium strains*. *Infect Immun* 1979;24:7-11.

158 Dale B. *Campylobacter* enteritis. *Br Med J* 1977;2:318

159 Davidson GP, Barnes GL. Structural and functional abnormalities of the small intestine in infants and young children with *Rotavirus* enteritis. *Acta Paediatr Scand* 1979;68:181-186.

160 Davidson GP, Bishop RF, Townley RR, Holmes IH, Ruck BJ. Importance of a new virus in acute sporadic enteritis in children. *Lancet* 1975;1:242-246.

161 Davidson GP, Gall DC, Petric M, Butler DG, HHamilton JR. Human *Rotavirus* enteritis induced in conventional piglet:Intestinal structure and transport. *J Clin Invest* 1976;60:1402-1409.

162 Davidson GP, Goodwin D, Robb TA. Incidence and duration of lactose malabsorption in children hospitalized with acute enteritis: Study in weel-nourished urban population. *J Pediatr* 1984;105:587-590.

163 Davidson GP, Hogg RJ, Kirubakaran CP. Serum and intestinal immune response to *Rotavirus* enteritis in children. *Infect Immun* 1983;40:447-452.

164 Davies DP, Ansari BM, Mandal BK. The declining incidence of infantil hypernatremic dehydration in Great Britain. *Am J Dis Child* 1979;133:148-150.

165 Davies DP. Plasma osmolality and feeding practices of healthy infants in the first three months of live. *Br Med J* 1973;2:340-342.

166 De Jorge. Cyclic nucleotide-dependent phosphorilation of intestinal ephitelial proteins. *Nature* 1976;262:590-594.

167 De Mol P, Brasseur D, Hemelhof W, Kalala T, Butzler JB, Vis HL. Enteropathogenic agents in children with diarrhea in rural Zaire. *Lancet* 1983;2:516-518.

168 De SN, Chatterje DN. An experimental study of the mechanism of action of *Vibrio cholerae* on the intestinal mucous membrane. *J Pathol Bacteriol* 1953;66:559-562.

169 Deal WS, Johnson JE. Gastric phycomicosis. *Gastroenterology* 1969;57:579.

170 Dean AG, Ching JC, Williams RG, Harder LB. Test for *Escherichia coli* enterotoxin using infant mice: application in a study of diarrhea in children in Honolulu. *J Infect Dis* 1972;125:407-411.

171 Dearlove J, Lalham P, Dearlove B, Pearl K, Thomson A, Lewis IG. Clinical range of neonatal *Rotavirus* gastroenteritis. *Br Med J* 1983;286:1473-1475.

172 Declaration of Alma-Ata: Report on the International Conference on Primary Health Care, Alma-Ata, URSS, 1978.

173 Delage G, McLaughlin B, Berthiaume L. A clinical study of *Rotavirus* gastroenteritis. *J Pediatr* 1978;93:455-457.

174 Delorme L, Lambert T, Branger C, Acar JF. Enteritis a *Campylobacter jejuni* dans la region parisiene. *Med Mal Infect* 1979;9:675-681.

175 DeMol P, Bosmans E. *Campylobacter* enteritis in Central Africa. *Lancet* 1978;1:604.

176 Dene DT, Knoop FC. The effect of calcium and prostaglandins inhibitors on the intestinal fluid response to heat-stable enterotoxin of *Escherichia coli*. *J Inf Dis* 1982; :141-147.

177 Deneke CF, MacGowan K, Thorne GM, et al.. Attachment of enterotoxigenic *Escherichia coli* to human intestinal cells. *Infect Immun* 1983;39:1102-1106.

178 Deneke CF, Thorne GM, Gorbach SL. Serotypes of attachment pili of enterotoxigenic *Escheri-*

chia coli isolated from humans. *Infect Immun* 1981;32:1254-1260.

179 Deorari AK, Bhan MK, Arora NK, et al.. Stool electrolyte composition in relation to etilology in acute gastroenteritis. *Indian Pediat* 1982;19:217-220.

180 DeTorres BV, Ilja RM, Esparza J. Epidemiological aspects of *Rotavirus* infection in hospitalized Venezuelan children with gastroenteritis. *Am J Trop Med Hyg* 1978:27:567-572.

181 Devenish JA, Schiemann DA. HeLa cell infection by *Yersinia enterocolitica*: evidence for lack of intracellular multiplication and development of a new procedure for quantitative expression of infectivity. *Infect Immun* 1981;32:48-55.

182 Dimitrov DH, Estes MK, Rangelova SM, Shindarov LM, Melnick JL, Graham DY. Detection of antigenicaly distinct rotaviruses from infants. *Infect Immun* 1983;41:523-526.

183 Dimitrov DH, Graham DY, Lopez J, Muchinik G, Velasco G, Stenback WA, Estes MK. RNA electrphoretypes of human rotaviruses from North and South America. *Bull WHO* 1984;62:321-329.

184 Dolin R, Levy AG, Thornhill TS, Gardner JD. Viral gastroenteritis induced by thw Hawaii agent. Jejunal histopathology and serological response. *Am J Med* 1975;59:761-768.

185 Dominick HC, Maass G. Rotavirus infektionen im Kindesalter. *Klin Pediatr* 1979;191:33-39.

186 Donta ST, Wallace RB, Whipp SC, Olarte I. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and diarrheal disease in Mexican children. *J Infect Dis* 1977;135:482-485.

187 Dorronsoro I, Gómez MJ, Diaz R. Enterites por *Campylobacter* en Navarra. *Rev Med Univ Navarra* 1982;26:47-49.

188 Drake AA, Gilchrist JR, Washington JA. Diarrhea due to *Campylobacter fetus subspecies jejuni*. A clinical review of 63 cases. *Mayo Clin Proc* 1981;56:414-423.

189 Drasar BS. Pathogenic oganism causing infectious diarrhea. In: Manuel PD, Walker-Smith JA, Tomkins A, eds. *Infections of the gastrointestinal tract*. New York: Churchil Livingstone, 1986;24-46.

190 Drucker J, Thompson R, Fortier B,Sizaret P, Nivet H, Rolland JC, Grenier B. Gastroentérite infantile à *Rotavirus*. Etude épidémilogique, clinique et microbiologique en milieu hospitalier. Approche analytique du diagnostic clinique. *Med Mal Infect* 1981;11:413-420.

191 Ducluzeau R. Diarrhees du jeune et agents bacteriens. *INSERM* 1984;121:123-142.

192 Dudfied R. Diarrhea in 1911. Proc R Soc Med 1912;5 (epidemioly section):99-135.

193 Dunn C, Martin WJ. Comparison of media for isolation of *Salmonella* and *Shigella* from fecal specimens. *Appl Microbiol* 1971;22:17-22.

194 DuPont HL, Formal SB, Hornick RB. Pathogenesis of *Escherichia coli* diarrhea. *N Engl J Med* 1971;285:1-9

195 DuPont HL, Hornick RB, Snyder MJ. Immunity in shigellosis. I. Respinse of man to attenuated strains of *Shigella*. *J Infect Dis* 1972;125:5

196 DuPont HL, Olarte J, Evans DG, Pickering LK, Galindo E, Evans DJ. Comparative susceptibility of Latin American and United States students to enteric pathogens. *N Engl J Med* 1976;295:1520-1521.

197 DuPont HL, Sullivan PS. Giardiasis: the clinical spectrum, diagnosis and therapy. *Pediatr Infect Dis* 1986;5:S131-S138.

198 DuPont HL. Diarrheal diseases: an overview. *Am J Med* 1985;78 (suppl 6B):63-64.

199 DuPont HL. Rotaviral gastroenteritis: some recent developments. *J Infect Dis* 1984;149:663-665.

200 Durie PR. Intestinal Protein Loss and fecal alfa1-antitrypsin.*J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1985;4:345-347.

201 Dyall-Smith ML, Holmes IH. Comparisons of *Rotavirus* polypeptides by limited proteolysis: close similarity of certain polipeptides of different strains. *J Virol* 1981;40:720-728.

202 Dyall-Smith ML, Holmes IH. Gene-coding assignments of *Rotavirus* double-stranded RNA segments 10 and 11. *J Virol* 1981;38:1099-1103.

203 Ebrahim GJ. Infection in the malnourished. *J Trop Pediatr* 1985;31:130-131.

204 Echeverria P, Blacklow N, Cuckor GG, Vibulbandhitki S, Changchawalit S, Boonthai P. *Rotavirus* as cause of gastroenteritis in adult. *J Clin Microbiol* 1983;18:663-667.

205 Echeverria P, Blacklow N, Smith D. Role of heat-labile *Escherichia coli* and reovirus-like agent in diarrhea in Boston children. *Lancet* 1975;2:1113-1116.

206 Echeverria P, Blacklow N, Vollet J, Uylangeo CV, Cuckor G, Soriano VB, DuPont HL, Cross JH, Orskov F, Orskov S. *Reovirus*-like agent and enterotoxigenic *Escherichia coli* infections in pediatric diarrhea in the Philippines. *J Infect Dis* 1978;138:326-332.

207 Echeverria P, Burke DS, Blacklow NR, Cuckor G, Charoenkul C, Yanggratoke S. Age-specific prevalence of antibody to *Rotavirus*, *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin, *Norwalk* virus, and Hepatitis A virus in a rural community in Thailand. *J Clin Microbiol* 1983;17:923-925.

208 Echeverria P, Ho MT, Backlow NR, Quinnan G, Portnoy B, Olson JG, Conklin R, DuPont L, Cross JH. Relative importance of viruses and bacteria in the etiology of pediatric diarrhea in Taiwan. *J Infect Dis* 1977;136:383-390.

209 Echeverria P, Orskov F, Orskov I, Plianbangchang D. Serotypes of enterotoxigenic *Escherichia coli* in Tailand and Philippines. *Infect Immun* 1982;36:851-856.

210 Edelman R, Levine MM. Summary of a workshop on enteropathogenic *Escherichia coli*. *J Infect Dis* 1983;147:1108-1118.

211 Edelman R, Levine MM. Acute diarrheal infections in infants II: Bacterial and viral causes. *Hosp Prat* 1980;15:97-109.

212 Editorial. The *Rotavirus* syndrome. *Lancet* 1979;2:186.

213 Editorial. Mechanism in enteropathogenic *Escherichia coli* diarrhoea. *Lancet* 1983;2:1283-1284.

214 Edwards PR, Ewing WH, eds. *Identification of Enterobacteriaceae*. 3rd ed. Burgess Pub. Co., Minneapolis, Minnesota, 1972.

215 Eiden J, Losonsky GA, Johnson J, Yolken RH. *Rotavirus* RNA variation during chronic infection of immunocompromised children. *Pediatr Infect Dis* 1985;4:632-637.

216 Eigler N, Sacca L, Sherwin RS. Synergistic interactions of physiologic increments of glucagon, epinefhrine and cortisol in dog. *J Clin Invest* 1979;63:114-1123.

217 Elias MM. Distribuition and titres of *Rotavirus* antibodies in different age groups. *J Hyg* 1977;79:365-372.

218 Elias MM. Separation of infectivity of two particle types of human *Rotavirus*. *J Gen Virol* 1977;37:191-194.

219 Ellens DJ, De Leeuw PW. Detection of the infantile gastroenteritis virus (*Rotavirus*) by ELISA. *Lancet* 1977:1:1363.

220 Ellis ME, Watson B, Dunbar EM, Mokashi A. Contemporary gastroenteritis in infancy: clinical features and prehospital management. *Br Med J* 1984;288:521-523.

221 Engleberg NC, Holburt EN, Barret TJ, Gary GWJr, Trujillo MH, Feldam RA, Hughes JM. Epidemilogy of diarrhea due to *Rotavirus* in an Indian reservation: risk factors in the home environment. *J Infect Dis* 1982;145:894-898.

222 Eras P, Goldstein MJ, Sherlock P. *Candida* infection of the gastrointestinal tract. *Medicine* 1972;51:367-377.

223 Eras P, Goldstein MJ, Sherlok P. *Candida* infection of the gastrointestinal tract. *Medicine* 1972;51:367-377.

224 Ericson BL, Graham DY, Mason BB, Estes MK. Identification, synthesis, and modifications of simian *Rotavirus* SA11 polypeptides in infected cells. *J Virol* 1982;42:825-839.

225 Escherich T. Die Darmbakterien des neugeborenen und Säuglings. *Fortschr Med* 1885;3:515-547.

226 Esparza J, Gil F. A study on the ultrastructure of human *Rotavirus*. *Virology* 1978;91:141-150.

227 Espejo RT, Calderon E, Gonzalez N, Salomon A, Martuscelli A, Romero P. Presence of two disctint types of *Rotavirus* in infants and young children hospitalized with acute gastroenteritis in Mexico city, 1977. *J Infect Dis* 1979;139:474-477

228 Espejo RT, Lopez S, Arias C. Structural polypeptides of simian *Rotavirus* SA11 and the effect of trypsin. *J Virol* 1981;37:156-160.

229 Espejo RT, Martinez E, Lopez S, Munoz E. Different polypeptide composition of two human *Rotavirus* types. *Infect Immun* 1980;28:230-237.

230 Estes MK, Graham DY, Dimitrov DH. The molecular epidemiology of *Rotavirus* gastroenteritis. *Prog Med Virol* 1984;29:1-22.

231 Evans DG, Evans DJ Jr, Tjoa W. Hemagglutination of human group A erytrocytes by enterotoxigenic *Escherichia coli* isolates from adults with diarrhea: correlation with colonization factor. *Infect Immun* 1977;18:330-337.

232 Evans DG, Evans DJ Jr, Tjoa WS, Dupont HL. Detection and characterization of colonization factor of enterotoxigenic *E.coli* isolated from adults with diarrhea. *Infect Immun* 1978;19:727-731.

233 Evans DG, Evans DJ Jr. New surface-associated heat-labile colonization factor (CFA/II) produced by enterotoxigenic *Escherichia coli* of serogroups O6 and O8. *Infect Immun* 1978;21:638-647.

234 Evans DG, Evans DJ Jr. Classification of pathogenic *Escherichia coli* according to serotype and the production of virulence factors, with special reference to colonization factor antigen. *Rev Infect Dis* 1983;5(Suppl 4):692-701.

235 Evans DG, Olarte J, DuPont HL, Evans DJ, Galindo A, Portnoy BL, Conklin RH. Enteropathogens associated with pediatric diarrhea in Mexico city. *J Pediatr* 1977;91:65-68.

236 Evans DG, Silver RP, Evans DJ, Chase DG, Gorbach SL. Plasmid-controlled colonization factor associated with virulence in *Escherichia coli* enterotoxigenic for humans. *Infect Immun* 1975;12:657-667.

237 Evans DJ Jr, Evans DG, Dupont HL. Hemagglutination patterns of enterotoxigenic and enteropathogenic *E.coli* determined with human, bovine, chicken and guinea pig erytrocytes. *Infect Immun* 1979;23:336-346.

238 Evans DRJr, Evans DG, DuPont HL, Orskov F, Orskov I. Patterns of loss of enterogenecity by *Escherichia coli* isolated from adults with diarrhea: Suggestive evidence of interrelationship with serotype. *Infect Immun* 1977;17:105-111.

239 Ewing WH, Davis BR, Montague TS. *Studies on the occurrence of Escherichia coli serotypes associated with diarrheal disease*. Atlanta: US Department of Health, Education, and Welfare,1963.

240 Fagundes Neto U. Malnutrition and malabsorption. *Arq Gastroenterol* 1982;19:91-98.

241 Feachem FG, Koblinsky MA. Interventions for the control of diarrhoeal diseases among young children: Promotion of breast feeding. *Bull WHO* 1984;62:271-291.

242 Ferguson A, McClure JP, Townley RW. Intraepithelial lymphocyte counts in small intestinal biopsies from children with diarrhoea. *Acta Paediatr Scand* 1976;65:541-546.

243 Fergusson DM, Howard LJ, Shannon FT, et al.. Breast-feeding, gastrointestinal and lower respiratory illness in first five years. *Aust Pediatr J* 1981;17:191-195.

244 Field M. Model of action of enterotoxins from *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli*. *Rev Infect Dis* 1979;1:918-926.

245 Figueroa G, Troncoso M, Araya M, Espinoza J, Brunser O. Enteropathogen carriage by healthy individuals living in an area with poor sanitation. *J Hyg* 1983;91:499-507.

246 Finberg L, Cheung CS, Fleishman E. The significance of the concentrations of electrloytes in stool water during infantile diarrhea. *Am J Dis Child* 1960;100:809-813.

247 Finberg LF. Hypernatremic (hypertonic) dehydration on infants. *N Engl J Med* 1973;289:196-199.

248 Finkelstein RA, Marchlewicz BA, McDonald, Boesman-Finkelstein M. Isolation and characterization of cholera-related enterotoxin from *Salmonnela typhimurium. FEMS Letters* 1983;17:239-241.

249 Finkelstein RA. *Cholerae. Crit Rev Microbiol* 1973;2:553-623.

250 Flewett TH, Bryden AS, Davies H, Woode GN, Bridger JC, Deriick JM. Relationship between viruses from acute gastroenteritis of children and newborn calves. *Lancet* 1974;2:61-63.

251 Flewett TH, Bryden AS, Davies H. Diagnostic electron microscopy of faeces. I. The viral flora of the faeces as seen by electron microscopy. *J Clin Pathol* 1974;27:603-614.

252 Flewett TH, Bryden AS, Davis H. Virus particles in gastroenteritis. *Lancet* 1973;2:1497.

253 Flewett TH, Davies H. *Calicivirus* in man. *Lancet* 1976;1:311.

254 Flewett TH, Thouless ME, Pilford JN, Bryden AS, Candeias J. More serotypes of human *Rotavirus. Lancet* 1978;2:632.

255 Flewtt TH, Bryden AS, Davies H, Morris CA. Epidemic viral enteritis in a long-stay children's ward. *Lancet* 1975;1:4-5.

256 Flores J, Nakagomi O, Nakagomi T, Glass R, Gorziglia M, Askaa J, Hoshino Y, Perez-Schael I, Kapikian AZ. The role of *Rotavirus* in pediatric diarrhea. *Pediatr Infect Dis* 1986;5:S53-S62.

257 Flores J, Perez I, White L, Perez M, Kalica AR, Marquina R, Wyatt RG, Kapikian AZ, Chanock RM. Genetic relatedness among human rotaviruses as determined by RNA hybridization. *Infect Immun* 1982;37:648-655.

258 Follet EA, Desselberger U. Co-circulation of different *Rotavirus* strains in a local outbreak of infantile gastroenteritis: monitoring by rapid and sensitive nucleic acid analysis.*J Med Virol* 1983;11:39-52.

259 Follet EA, Sanders RC, Beards GM, Hundley F, Desselberg U. Molecular epidemiology of human *Rotavirus*. Analysis of outbreak of acute gastroenteritis in Glasgow and the West of Scotland. *J Hyg* 1984;92:209-222.

260 Fonteyne J, Simpson TF, Woode GN, Fulton RW. Recurrent *Rotavirus* gastroenteritis. *Lancet* 1978;1:983.

261 Formal SB, Hale TH, Sansonetti PJ. Invasive enteric pathogens. *Rev Infect Dis* 1983;5 (suppl 4):702-707.

262 Forman MR, Graubard BI, Hoffman HJ, Beren R, Harley EE, Bennet P. The Pima Infant Feeding study: breast feeding and gastroenteritis in the first year of life. *Am J Epidemiol* 1984;119:335-349.

263 Foster SO, Palmer EL, Gary GW, Maron ML, Herrmann KL, Beasley P, Sampson J. Gastroenteritis due to *Rotavirus* in an isolated Pacific Island Group: an epidemic of 3439 cases. *J Infect Dis* 1980;141:32-39.

264 Freier S, Faber J. Loss of immune components during the processing of human milk. In: Williams AF Baum JD, eds.*Human milk banking*. Nestlé Nutrition, Vevey/Raven Press, New York, 1984:123-132.

265 Freiman I, Hartman E, Kassel H, et al.. A microbiological study of gastroenteritis in black infants. *S Afr Med J* 1977;52:261.

266 Gall DG, Hamilton JR. Infectious diarrhoea in infants and children. *Clin Gastroenterol* 1977;6:431-444.

267 Gangarosa EJ, Merson MH. Epidemiologic assessment of the relevance of the socalled enteropathogenic serotypes of *Escherichia coli* in diarrhea. *N Engl J Med* 1977;296:1210-1213.

268 Gangarosa Ej. Epidemiology of *Escherichia coli* in U.S.A. *J Infect Dis* 1978;137:634.

269 Gar B. Compétence immunitaire de l'enfant dans les pays en voie de développment. *Ann Nestlé* 1984;42:63-67.

270 Gardiner AJ, Tarlow MJ, Sutherland IT, Sammons HG. Lactose malabsorption during gastroenteritis assessed by the hydrogen breath test. *Arch Dis Child* 1981;56:364-367.

271 Gary GW, Hierholzer JC, Black RE. Characteristics of noncultivable adenoviruses associated with diarrhea in infants: a new subgroup of human adenovirus. *J Clin Microbiol* 1979;10:96-103.

272 Gautier E, Richterich R. Valeur diagnostique d'activités enzymatiques du sérum en pédiatrie. II. Constance et spécificité des anomalies enzymatiques. *Helv Paediatr Acta* 1963;18:32-79.

273 Gemsky P, Lazere JR, Casey T. Plasmid associated with pathogenicity and calcium dependency of *Yersinia enterocolitica*. *Infect Immun* 1980;27:682-685.

274 Gendrel D, Akaga R, Ivanoff B, Okouoyo E. Gastro-entérites aigues et allaitment maternel au Gabon. Reesultats préliminaires. *Med Trop* 1984;44:323-325.

275 Gerrard JW. Breast feeding: second thoughts. *Pediatrics* 1974;54:757-764.

276 Ghisolfi J, Oliver JP, Puel J, Thouvenot JP. Concentration électrólitique des selles dans les diarrhées aiguës. Comunication V^a réunion de gastroentérologie pédiatrique et de nutrition. *Soc Fr Pediatr* 1984.

277 Ghisolfi J, Thouvenot JP, Olives JP, Brunerie M, Couvras O. Concentration électrolytique des selles dans les diarrhées aiguës du nourisson en France. *Arch Fr Pediatr* 1986;43:317-320.

278 Ghose LH, Schnagh RD, Holmes NI. Comparison of an enzyme-linked immunosorbent assay for quantification of *Rotavirus* antibodies with complement fixation in a epidemiological survey. *J Clin Microbiol* 1978;8:268-276.

279 Gianella RA, Washington O, Gemski P, Formal SB. Invasion of HeLa cells by *Salmonella typhimurium*: a model for study of invasivness of *Salmonella*. *J Infect Dis* 1973;128:69-75.

280 Gianella RA. Pathogenesis of acute bacterial diarrheal disorders. *Am Rev Med* 1981;32:341-347.

281 Gianella RA. *Escherichia coli* Heat stable enterotoxin: biochemical and physiological effects on the intestine. *Prog Fed Nutr* 1983;7:157-165.

282 Giannella RA, Drake KW. Effect of purified *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin on intestinal cyclic nucleotide metabolism and fluid secretion. *Infect Immun* 1979;24:19-23.

283 Giannella RA, Gots RE, Charney AN, Greenough WB, Formal SB. Pathogenesis of *Salmonella*-mediated intestinal fluid secretion: activation of adenylate cyclase and inhibition by indomethacin. *Gastroenterology* 1975;69:1238-1245.

284 Giannella RA. Suckling mouse model for detection of heat-stable *Escherichia coli* enterotoxin: characteristics of the model. *Infect Immun* 1976;14:95-99.

285 Gill BB, Hillemeier AC, Grybosky JD. Fecal alpha1-antitrypsin clearance in patients with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1984;3:56-61.

286 Gill DM. Mechanisms of action of *cholerae* toxin. *Adv Cyclic Nucleotide Res* 1977;8:85-118.

287 Gindrat JJ, Gotherfors L, Hanson LA, Winberg J. Antibodies in human milk against *E. coli* of the serogroups most commonly found in neonatal infection. *Acta Paediatr Scand* 1972;61:578.

288 Glass RI, Svennerholm AM, Stoll BJ. Protection against cholera in breast-fed children by antibodies in breast milk. *N Engl J Med* 1983;308:1389-1392.

289 Goel KM, Shanks RA, McAllister TA, Follet EAC. Prevalence of intestinal infestation, salmonellosis, brucellosis, tuberculosis, and hepatitis B among immigrant children in Glasgow. *Br Med J* 1977;1:676-679.

290 Goldblum RM, Goldman AS, Garza C, Johnson CA, Nichols BL. Human milk banking. II. relative stability of immunologic factors in stored colostrum. *Acta Paediatr Scand* 1982;71:143-144.

291 Goldman AS, Smith CW. Host resistance factors in human milk. *J Pediatr* 1973;82:1082-1092.

292 Goldwater PN, Christie IL, Batnavala JE. *Rotavirus* and the respiratory tract. *Br Med J* 1979;2:1551.

293 Goldwater PN. Gastroenteritis in Auckland: an aetiological and clinical study. *J Infect* 1979;1:339-351.

294 Gordon AG. *Rotavirus* infections and the sompe syndrome. *J Infect Dis* 1982;146:117-118.

295 Gordon JE, Chitkara ID, Wyon JB. Weaning diarrhea. *Am J Med Sci* 1963;245:345-347.

296 Gracey M,Burke V, Robinson J. Patterns of intestinal infection in Australian Aboriginal children. *Ann Trop Paed* 1983;3:35-39.

297 Gracey M. Bacterial diarrhoea. *Clin Gastroenterol* 1986;15:21-37.

298 Gracey M. Pathogenesis of diarrhoea. In: Michael Gracey ed. *Diarrhoeal disease and malnutrition.* Londres: Churchill livingstone,1985:15-29.

299 Graffar M. Une méthode de classification d'échantillons de la population. *Courrier* 1956;6:455.

300 Granballe PC, Vestgaard BF, Meyling A, Gemmer J. Optimized enzyme-linked immunosorbent assay for detection of human and bovine *Rotavirus* in stools: comparison with electron microscopy, immunoelectroosmophoresis and fluorescent antibody techniques. *J Med Virol* 1981;7:29-40.

301 Grant RJ, Stuphen JL, Montgomery R. The immature intestine: implications for nutrition of the neonate in the development of mammalian absorptive processes. *Ciba Foundation Symposium* 70. 1979:293-311.

302 Greenberg HB, McAuliffe V, Valdesuso J, Wyatt Rg, Flores J, Kalica AR, Hoshino Y, Singh N. Serological analysis of the subgroup protein of *Rotavirus*, using monoclonal antibodies. *Infect Immun* 1983;39:91-99.

303 Greenberg HB, Valdesuso J, Vanwyke K, Midthun K, Walsh M, Mc Auliffe V, Wyatt RC, Flores J, Hoshino Y. Production and preliminary characterization of monoclonal antibodies direct at two surface proteins of rhesus *Rotavirus. J Virol* 1983;47:267-275.

304 Grenier B. Gastro-entérites aigues à *Yersinia enterocolitica* chez l'enfant. *Rev Med Tours* 1982;16:1085-1093.

305 Gribbin M, Walker-Smith JA, Wood CBS. Gastroenteritis and its sequelae: a prospective review of experience in a children'hospital. *Acta Paediatr Scand* 1975;64:145-146.

306 Grimwood K, Abbott GD, Fergusson DM, Jennings LC, Allan JM. Spread of *Rotavirus* within families: a community based study. *Br Med J* 1983;287:575-577.

307 Gross RJ, Cravioto A, Scotland SM, Cheasty T, Rowe B. The occurrence of colonization factor (CF) in the enterotoxigenic *Escherichia coli. FEMES Microbiol Letts* 1978;3:231-233.

308 Gross RJ, Scotland SM, Rowe B. Enterotoxin testing of *Escherichia coli* causing epidemic infantile enteritis in the UK. *Lancet* 1976;1:629-632.

309 Grove DI. Parasitic intestinal infections. In: Michael Gracey ed. *Diarrhoeal disease and malnutrition.* Londres: Churchill Livingstone, 1985:84-101.

310 Guandalini S, Rao MC, Smith PL, Field M. cCMP modulation of ileal ion transport: in vitro effects of *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin. *Am J Physiol* 1982;243:G36-G41.

311 Guerrant RL, Brunton LL, Schnaitman TC, Rebhun LI, Gilman AG. Cyclic adenosine monophosphate and alteration of Chinese Hamster Ovary cell morphology: a rapid sensitive in vitro assay for the enterotoxin of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli. Infect Immun* 1974;10:320-327.

312 Guerrant RL, Hughes JM, Chang B, Robertson DC, Murad F. Activation of intestinal guanylate cyclase by heat-stable entrotoxin of *Escherichia coli*: studies of tissue specificity, potential receptors, and intermediates. *J Inf Dis* 1980;142:220-228.

313 Guerrant RL, Kirchhoff LV, Shields DS, Nations MK, Leslies J, De Sousa MA, Araújo JG,

Correia LL, Sauer KT, McClelland KE. Prospective study of diarrheal ilness in northeastern Brazil: patterns of disease, nutricional impact, etiologies and risks factors. *J Infect Dis* 1983;148:986-987.

314 Guerrant RL, Lahita RG, Winn WCJr, Roberts RB. Campylobacteriosis in man: pathogenic mechanisms and review of 91 bloodstream infections. *Am J Med* 1978;65:584-592.

315 Guerrant RL, Moore RA, Kirschenfeld PM,Sande MA. Role of toxigenic and invasive bacteria in acute diarrhea in childhood. *N Engl J Med* 1975;293:567-573.

316 Guerrant RL. Unresolved problems and future considerations in diarrheal research. *Pediatr Infect Dis* 1986;5:S155-S161.

317 Guiraldes E, Hamilton JR. Effect of chronic malnutrition on intestinal structure, epithelial renewal and enzymes in suckling rats. *Pediatr Res* 1981;15:930-934.

318 Gurwith M, Hinde D, Gross R, Rowe B. A prospective study of enteropathogenic *Escherichia coli* in endemic diarrheal disease. *J Infect Dis* 1978;137:292-297.

319 Gurwith M, Wenman W, Gurwith D, Brunton J, Feldham S, Greenberg H. Diarrhea among infants and young children in Canada: a longitudinal study in three northern communities. *J Infect Dis* 1983;147:685-692.

320 Gurwith M, Werman W, Hinde D, Feltham S, Greenberg H. A prospective study of *Rotavirus* infection in infants and young children. *J Infect Dis* 1981;144:218-224.

321 Gurwith MJ, Williams TW. Gastroenteritis in children: a two years review in Manitoba. I. Etiology. *J Infect Dis* 1977;136:239-247.

322 Gust ID, Pringle RC, Barnes GL, Davidson GP, Bishop RF. Complement-fixing antibody response to *Rotavirus* infection. *J Clin Microbiol* 1977;5:125-130.

323 Hadziselimovic F, Just M, Berger R, Frey I, Stalder G. *Rotavirus* infection and otitis media. *Infection* 1984;12:296.

324 Haikala OJ, Kokkonen JO, Leinonen MK, Nurmi T, Mäntyjärvi R, Sarkkinen HK. Rapid detection of *Rotavirus* in stool by latex agglutination. Comparison with radioimmunoassay and electron microscopy and clinical evaluation of the test. *J Med Virol* 1983;11:91-97.

325 Hale TL, Sansonetti PJ, Schad PA, Austin S, Formal SB. Characterization of virulence plasmids and plasmid-associated outer membrane proteins in *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, and *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1983;40:340-350.

326 Haller L, Zubler RH, Lambert PH. Plama levels of complement components and complement haemolytic activity in protein-energy malnutrition. *Clin Exp Immunol* 1978;34:248-252.

327 Halonen P, Sarkkinen H, Arstila P, Hjertsson E, Torfason E. A four-layer radioimmunoassay for detection of *Adenovirus* in stool. *J Clin Microbiol* 1980;11:614-617.

328 Hamilton JR, Gall DG, Buttlet DG, Midlleton PJ. Viral gastroenteritis: recent progres, remaining problems. In: Elliot K, Knight J,eds. *Acute diarrhoea in childhood*. Ciba Foudation Symposium 42. Amsterdam: Elsevier, Excerpta Medica, 1976:209-222.

329 Hamilton JR. The treatment of acute diarrhea. *Ped Clin N Am* 1985;32:419427.

330 Hanson LA, Hofvander Y, Lindquist B, Zetterstrom R. Breast-feeding as a protection against gastroenteritis and others infections. *Acta Paediatr Scand* 1985;74:641-642.

331 Harris JC, DuPont HL, Hornick RB. Fecal leukocytes in diarrheal illness. *Ann Int Med* 1972;76:697-703.

332 Hastings AB, Reynold AE, Ching-Tseng Teng. Effects of ions and hormones on carbohydrate metabolism. *Recent Prog Horm Res* 1955;11:381-400.

333 Havalad S, Chapple MJ, Kahakachi M. Convulsions asociated with *Campylobacter* enteritis. *Br Med J* 1980;280:984-985.

334 Heesemann J, Keller C, Morawa R, Schmidt N, Siemens HJ, Laufs R. Plasmids of human strains of *Yersinia enterocolitica*: Molecular relatedness and possible importance for pathogenesis. *J Infect Dis* 1983;147:107-115.

335 Hercz A, Bartin IM. The purification and properties of human alpha1-antitrypsin. *Eur J Biochem* 1977;74:604-608.

336 Hicks BH, Taylor CI, Vij SK, et al.. Effect of changes in plasma levels of free fatty acids on plasma glucagon, insulin and growth hormone in man. *Metabolism* 1977;26:1011-1123.

337 Hieber JP, Shelton S, Nelson JD, Leon J, Mohs E. Comparision of human *Rotavirus* disease in tropical and temperate settings. *Am J Dis Child* 1978;132:853-858

338 Hill RE, Hercz A, Corey ML, Gilday DL, Hamilton JR. Fecal clearance of alpha-1 antitrypsin: A reliable measure of enteric protein loss in children. *J Pediatr* 1981;99:416-418.

339 Hirschorn N. The treatment of acute diarrhea in children. An Historical and physiological perspective. *Am J Clin Nutr* 1980;33:637-663.

340 Hjelt K, Krasilnikoff PA, Grauballe PC, Rasmussen SW. Clinical features in hospitalized children with acute gastroenteritis. *Acta Paediatr Scand* 1985;74:96-101.

341 Ho BS, Wong WT. A one-year survey of *Campylobacter* enteritis and other forms of bacterial diarrhoea in Hong Kong. *J Hyg* 1985;94:55-60.

342 Hodes HL. Viral gastroenteritis. *Am J Dis Child* 1977;131:729-731.

343 Hohmann AW, Schmidt G, Rowley D. Intestinal colonization and virulence of *Salmonella* in mice. *Infect Immun* 1978;22:763-770.

344 Hollander R. Infektketten bei *Campylobacter jejuni/coli* infektionen des kindes. *Monatsschr Kinderheilkd* 1982;130:846-848.

345 Holmes EW, Kelley WN, Wyngaarden JD. The kidney and uric acid excretion in man. *Kidney Int* 1972;2:115-118.

346 Holmes IH, Ruck BJ, Bishop RF, Davidson GP. Infantile enteritis viruses: morphogenesis and morphology. *J Virol* 1975;16:937-943.

347 Holmes IH. Viral gastroenteritis. *Prog Med Virol* 1979;25:1-36.

348 Holmgren J, Fredman P, Lindblad M, et al.. Rabbit intestinal glycoprotein receptor for *Escherichia coli* heat labile enterotoxin lacking affinity for cholera toxin. *Infect Immun* 1982;38:424-433.

349 Holmgren J, Hanson LA, Carlsson B. Neutralization antibodies against *E. coli* and *V. cholera* anterotoxins in human milk from a developing country. *Scand J Infect Dis* 1976;5:867-871.

350 Holmgren J. Comparison of the tissue receptors for Vibrio cholerae and *Escherichia coli* enterotoxins by means of gangliosides and the natural cholerae toxoid. *Infect Immun* 1973;8:851-859.

351 Hoshino Y, Watt RG, Greenberg HB, Flores J, Kapikian AZ. Serotypic similarity and diversity of rotaviruses of mammalian and avian origin as studied by plaque-reduction neutralization. *J Infect Dis* 1984;149:694-702.

352 Hoshino Y, Wyatt RG, Greenberg HB, Kalica Ar, Flores J, Kapikian AZ. Serological comparison of canine *Rotavirus* with various simian and human *Rotavirus* by plaque neutralization and hemagglutination tests. *Infect Immun* 1983;41:169-173.

353 Houly C, Brunert H, Mietens C, Brusson H, Hilpert H. Epidemilogy of acute gastroenteritis in infants from the area of Bochum as revealed by electrophoresis of genome RNA. *Europ J Pediat* 1984;143:128-132.

354 Hovi T, Vaisanen V, Ukkonen P, VovBonsddorff. Solid-phase enzyme immunoassay for *Rotavirus* antigen: faecal protease activity as a reason for false-negative results. *J Virol Methods* 1982;5:45-53.

355 Hruska JF, Notter MFD, Menegus MA, Steinhoff MC. RNA plymerase associated with human rotaviruses in diarrheal stools. *J Virol* 1979:26:544-546.

356 Hull BP, Spence L, Bassett D, Swanston WH, Tikasingh ES. The relative importance of *Rotavirus* and other pathogens in the etiology of gastroenteritis in Trinidadian Children. *Am J Trop Med Hyg* 1982;31:142-148.

357 Hurtado RC. Malnutrition and immunological response. Diarrhea and immunity. In: Bellanti JA, ed. *Acute Diarrhea: It's Nutritional Consequences in Children.* New York: Nestlé,Vevey/ Raven Press, 1983:161-162.

358 Hymans JS, Krause PJ, Gleasen PA. Lactose malabsorption folowing *Rotavirus* infection in young children. *J Pediatr* 1981;99:916-920.

359 Inman LR, Cantey JR. Specific adherence of *Eshcerichia coli* (strain RDEC-1) to membranous (M) cells of the Peyer's patch in Escherichia coli diarrhea in the rabbit. *J Clin Invest* 1983;71:1-8.

360 Ironside AG, Tuxford AF, Heyworth B. A survey of infantile gastroenteritis. *Br Med J* 1970;3:20-4.

361 Islam A, Stoll BJ, Ljungstrom I, et al.. *Giardia lamblia* infections in a cohort of Bangladeshi mothers and infants followed for one year. *J Pediatr* 1983;103:996-1000.

362 Jalili F, Fraley JK, Smith EO, Nichols VN, Klein ER, Mintz AA, Nichols BL. Malnutrition in infants with acute diarrheal syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1982;1:219-222.

363 Jalili F, O'Brien JF, Nichols VN, Mintz AA, Nichols BL. Comparison of acquired monosacharide intolerance and acute diarrheal syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1982;1:81-89.

364 Jelliffe DB, Jelliffe EFP, eds.. *Human Milk in the Modern World.* Oxford: Oxford University Press, 1980.

365 Jelliffe DB, Jelliffe EFP. Breast milk and infection. *Lancet* 1981;2:419.

366 Jelliffe DB. Appréciation de l'état nutricionnel des populations. OMS. Série de Monographies 1969;53.

367 Jepsen OB, Korner B, Lauritsen KB. *Yersinia enterocolitica* infections in patients with acute surgical disease. *Scand J Infect Dis* 1976;8:189-194.

368 Johnson WM, Lior H, Bezanson ES. Cytotoxic *Escherichia coli* O157:H7 associated with haemorragic colitis in Canada. *Lancet* 1983;1:76.

369 Jonas A. Etilogy of acute gastroenteritis in children in Israel: role of human *Reovirus*-like agent and bacterial pathogens. *Is J Med Sci* 1979;15:754-760.

370 Jones GW, Rabert DK, Svinarich DM,Withfield HJ. Association of adhesive, invasive, and virulent phenotypes of *Salmonella typhimurium* with autonomous 60-megadalton plasmids. *Infect Immun* 1982;38:476-486.

371 Jones GW, Richardson LA. The attachment to, and invasion of HeLa cells by *Salmonella typhimurium*: the contribuition of mannose-sensitive and mannose-resistant haemagglutination activities. *J Gen Microbiol* 1981;127:361-370.

372 Jové S, Fagundes-Neto U, Wehba J, Machado NL, Patrício FRS. Giardiasis in childhood and its effects on the small intestine. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1983;2:472-477.

373 Kahnna KK, Ramanalhan A, Puri RK, Bhatia VM, Sundararaj T. Children diarrhoea and its association with enteropatogenic *Escherichia coli. Indian J Pediat* 1977;44:169.

374 Kalica AR, Greenberg HB, Espejo RT, Flores J, Wyatt RG, Kapikian AZ, Chanock RM. Distinctive ribonucleic acid patterns of human *Rotavirus* subgroups 1 and 2. *Infect Immun* 1981;33:958-961.

375 Kalica AR, Greenberg HB, Wyatt RG, Flores J, Sereno MM, Kapikian AZ, Chanock RM. Genes of human (strain Wa) and bovine (strian Uk) rotaviruses that code for neutralization and subgroup antigens. *Virology* 1981;112:385-390.

376 Kalica AR, Sereno MM, Wyatt RG, Mebus CA, Chanock RM, Kapikian AZ. Comparison of human and animal *Rotavirus* strains by gel electrophoresis of viral RNA. *Virology* 1978;87:247-255.

377 Kanawati AA, McLaren DS. Assessment of marginal malnutrition. *Nature* 1970;228:573.

378 Kane JG, Chretien JH, Garagusi VF. Diarrhea caused by *Candida. Lancet* 1976;1:335.

379 Kapikian AZ, Cline WL, Greenberg HB, Wyatt AR, Kalica AR, Banks CE, James HD, Flores J, Vhanock RM. Antigenic characterization of human and animal rotaviruses by immun adherence hemagglutination assay (IAHA): evidence of distinctiness of IAHA and neutralization antigens. *Infect Immun* 1981;33:415-425.

380 Kapikian AZ, Cline WL, Mebus CA, Wyatt RG, Kalica AR, James HDJr, Van Kirk D, Chanock RM, Kim HW. New complement-fixation test for the human *Reovirus*-like agent of infantile gastroenteritis, Nebraska calf diarrhoea virus used as antigen. *Lancet* 1975;1:1056-1061.

381 Kapikian AZ, Greenberg HB, Wyatt RG, Kalica AR, Kim HW, Brandt CD, Rodriguez WJ, Parrott RH, Chanock RM. Viral gastroenteritis. In: *Viral infections of humans*. 2nd ed. New York: Plenum, 1982:283-326.

382 Kapikian AZ, Kim HW, Wyatt RG, Cline WL, Arrobio JO, Brandt CD, Rodriguez WJ, Sack SA, Chanock RM, Parrott RH. Human *Reovirus*-like agent as a major pathogen associated with winter gastroenteritis in hospitalized infants and young children. *N Engl J Med* 1976;294:965-972.

383 Kapikian AZ, Kim HW, Wyatt RG, Cline WL, Parrot RH, Chanock RM, Arrobio JO, Brandt CD, Rodriguez WJ, Kalica AR, Van Kirk DH. Recent advances in the aetiology of viral gastroenteritis. In: Elliot K, Knight J, eds. *Acute diarrhoea in childhood*. Ciba Foudation Symposium 42. Amsterdam: Elsevier, Excerpta Medica, 1976:273-295.

384 Kapikian AZ, Kim HW,Wyatt RG, Rodriguez WJ, Ross S, Cline WL, Parrot RH, Chanock RM. *Reovirus*-like agent in stools: association with infantile diarrhea and development of serological tests. *Science* 1974;185:1049-1053.

385 Kapikian AZ, Wyatt RG, Greenberg HB, Kalica AR, Kim HW, Brandt CD, Rodriguez WJ, Parrott RH, Chanock RM. Approaches to immunization of infants and young children against gastroenteritis due to rotaviruses. *Rev Infect Dis* 1980;2:459-469.

386 Kapikian AZ, Wyatt RG, Levine MM, Yolken RH, Vankirk DH, Dolin R, Greenberg HB, Chanock RM. Oral admnistration of human *Rotavirus* to volunteers: induction of illness and correlates of resistance. *J Infect Dis* 1983;147:95-106.

387 Kapikian AZ, Wyatt RG, Levine NM, et al.. Studies in volunteers with human rotaviruses. *Dev Biol Stand* 1983;53:209-218.

388 Kapikian AZ, Yolken H,Greenberg HB, Wyatt RG, Kalica AR, Chanock RM, Kim HW. Gastroenteritis viruses. In: Lennette EH e Schmidt NJ eds. *Diagnostic procedures for viral, rickettsial and clamydial infections*. Washington, DC: Am Public Health Assoc, 1978:927-995.

389 Kaplan EL. The group A streptococcal upper respiratory tract carrier state: an enigma. *J Pediatr* 1980;97:337-345.

390 Kapperud C. *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia*-like microbes isolated from mammals and water in Norway and Denmark. *Acta Pathol Microbiol Scand* [B] 1977;85:129.

391 Kapperud G. Studies on the pathogenicity of *Yersinia enterocolitica* and *Y. enterocolitica*-like bacteria. I. Enterotoxin production at 22º and 37ºC by environmental and human isolates from Scandinavia. *Acta Pathol Microbiol Scand* [B]. 1980;88:287-291.

392 Kapsenberg JG, Muzerie CJ, Wermenbol AG, Firtzlaff RG. Candidate adenoviruses 40 and 41: fastidious adenoviruses from human infant stools. *J Med Virol* 1983;11:215-231.

393 Karbach U, Ewe K, Bodenstan H. Alpha1-antitrypsin, a reliable endogenous marker for intestinal protein loss and its application in patients with Crohn's disease. *Gut* 1983;24:718-723.

394 Karmali MA, Fleming RC. *Campylobacter* enteritis in children. *J Pediatr* 1979;94:527-533.

395 Karmali MA, Steele BT, Petric M, Lim C. Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. *Lancet* 1983;1:619-620.

396 Karmali MA, Tan YC. Neonatal *Campylobacter* enteritis. *Can Med Assoc J* 1980;122:192-193.

397 Keaney NP, Kelleher J. Fecal excretion of alpha1-antitrypsin in protein loss enteropathy. *Lancet* 1980;1:711.

398 Keenan KP,Jervis HR, Marchwicki RH, Binn LN. Intestinal infection of neonatal dogs with

canine *Coronavirus* 1-71: studies by virologic, histologic, histochemical, and immunofluorescent techniques. *Am J Vet Res* 1976;37:247-256.

399 Kelley WN. Effects of drugs on uric acid in man. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1975;15:327-350.

400 Kendall EJC, Tanner EI. *Campylobacter* enteritis in general pratice. *J Hyg* 1982;88:155-163.

401 Kerry KR, Anderson CM. A ward test for sugar in faeces. *Lancet* 1964;1:981-982.

402 Kerzner B, Kelly MH, Gall DG, Butler DG, Hamilton JR. Transmissible gastroenteritis: sodium transport in the intestinal epithelium during the course of viral enteritis. *Gastroenterology* 1977;72:457-461.

403 Keusch GT, Jacewicz M. Pathogenesis of *Shigella* diarrhea. VI. Toxin and antitoxin in *S.flexneri* and *S.sonnei* infections in humans. *J Infect Dis* 1977;135:552.

404 Keush GT, Donohur-Rolfe A, Jacewicz M. *Shigella* toxin(s): description and role in diarrhea and dysentery. *Pharmacol Ther* 1982;15:403-438.

405 Keush GT, Grady GF, Mata LJ, et al.. The pathogenesis of *Shigella* diarrhea.I. Enterotoxin production by *Shigella dysenteriae* 1. *J Clin Invest* 1972;51:1212-1218.

406 Khatua SP, Pang GD, Chatterjer BD. Bacterial etiology of diarrhoea in children with refrence to *Campylobacter fetus jejuni. Indian Res* 1984;21:49-53.

407 Khuffash FA, Majeed HA, Sthi SK, et al.. Gastroenteritis in a regional hospital in Kwait: some aspects of the disease. *Ann Trop Paed* 1982;2:123-128.

408 Khuffash FA, Majeed HA. Hypernatremic dehydration in infants with gastroenteritis. *Clin Pediatr* 1984;23:255-258.

409 Khuffash FA, Majeed HA. Basic epidemilological aspects of acute gastroenteritis in a regional hospital in Kwait. *Ann Trop Med* 1984;4:113-115.

410 Kim HW, Brandt CD, Kapikian AZ, Wyatt RG, Arrobio JP, Rodriguez WJ, Chanock RM, Parrott RH. Human *Reovirus*-like agent (HRVLA) infection: occurrence in adult contacts of pediatrics patients with gastroenteritis. *JAMA* 1977;238:404-407.

411 Kinsey MD, Formal SB, Dammin GJ, Giannella RA. Fluid and electrolyte transport in rhesus monkeys challenged intracecally with *Shigella flexneri* 2a. *Infect Immun* 1976;14:368-371.

412 Klispstein FA. Enterogenicity of enteropathogenic serotypes of *Escherichia coli* isolates from infants with epidemic diarrhea. *Infect Immun* 1978;21:171-178.

413 Knight R, Wright SG. Intestinal protozoa. *Gut* 1978;19:940-953.

414 Knight R. Epidemilogy and transmission of giardiasis.*Trans R Soc Trop Med Hyg* 1980;74:443-436.

415 Knutton S, Lloyd DR, Candy DCA, McNeish AS. Adhesion of enterotoxinenic and enteroinvasive *Escherichia coli* to human intestinal ephitelial cells. *Gut* 1983;24:996-997.

416 Kohl S, Jacobson JA, Nahmias A. *Yersinia enterocolitica* infections in children. *J Pediatr* 1976;89:77-79

417 Konno T, Sato T, Suzuki H, Kitaoka S, Katsushima N,Sakamoto M, Yazaki N, Ishida N. Changing RNA patterns in *Rotavirus* of human origin: Demonstration of a single dominant patterns at the start of an epidemic and various patterns thereafter. *J Infect Dis* 1984;149:683-687.

418 Konno T, Suzuki H, Imai A, Kutsuzawa T, Ishida N, Katsushima N, Sakamoto M, Kitaoka S, Tsumboi R, Aldachi M. A long-term survey of *Rotavirus* infection in Japanese children with acute gastroenteritis. *J Infect Dis* 1978;138:569-576.

419 Konno T, Suzuki H, Imai A,Ishida N. *Reovirus*-like agent in acute epidemic gastroenteritis in Japanese infants: fecal shedding and serological response. *J Infect Dis* 1977;135:259-266.

420 Konno T, Suzuki H, Ishida N, Chiba R, Mochizuki R, Tsunoda A. *Astrovirus*-associated epidemic gastroenteritis in Japan. *J Med Virol* 1982;9:11-17.

421 Konowalchuck J, Spiers JI, Stavric S. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli. Infect Immun* 1977;18:775-779.

422 Koo FC, Peterson JW, Houston CW, Molina NC. Pathogenesis of experimental Salmonellosis: inhibition of protein synthesis by cytotoxin. *Infect Immun* 1984;43:93-100.

423 Koopman JS, Turkish VJ, Monto AS, Gouvea V, Srivastava S, Isaacson RE. Patterns and etiology of diarrhea in three clinical setttings. *Am J Epidemiol* 1984;119:114-123.

424 Kopecko DJ, Forma SB. Plasmids and the virulence of enteric and other bacterial pathogens. *Ann Int Med* 1984;101:260-262.

425 Koster FT, Curlin GC, Ariz KMA, Hague A. Synergistic impact of measles and diarrhea in nutrition and mortality in Bangladesh. *Bull WHO* 1982;59:901-908.

426 Kovacs A, Chan L, Hotrakitya C, et al.. Serum transaminase elevations in infanys with *Rotavirus* gastroenteritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1986;5:873-877.

427 Kovacs A, Chan L, Hotrakitya C. *Rotavirus* gastroenteritis. *Am J Dis Child* 1987;141:161-166.

428 Kumate J, Isibasi A. Pediatric diarrheal diseases: a global perspective. *Pediatr Infect Dis* 1986;S21-S28.

429 Kurtz JB, Lee TW, Pickering D. *Astrovirus*-associated gastroenteritis in a children's ward. *J Clin Pathol* 1977;30:948-952.

430 Kuspner I. Indution and control of acute phase reactant synthesis. In: Walter G, ed..*Marker Protein in Inflamation*. Vol2. Berlin, 1984:3-14.

431 Lacroix J, Delage G, Goselin F, Chicoine L. Severe protacted diarrhea due to multiresistant adherent *Escherichia coli*. *Am J Dis Child* 1984;138:693-696.

432 Lambert JP, Marbehant P, Marissens D, Zissis G. Monoclonal antibodies direct against different antigenic determinants of *Rotavirus*. *J Virol* 1984;51:47-51.

433 Lambert JP, Marissens D, Marbehant P, Zissis G. Prevalence of subgroup 1, 2 and 3 rotaviruses in Belgian children suffering from acute diarrhea (1978-1981). *J Med Virol* 1983;11:31-38.

434 Lambert ME, Schofield PF, Ironside AG, Mandal BK. *Campylobacter* colitis. *Br Med J* 1979;281:857-859.

435 Larquia AM, Urman J, Osvaldo A, Stoliar A, et al.. Fresh human colostrum for the prevention of *E. coli* diarrhea - a clinical experience. *J Trop Pediatr* 1977;23:289-290.

436 Larsen JH, Kapperud G. Epidemiological aspects of enteritis due to *Campylobacter ssp*. in Norway. *J Clin Microbiol* 1984;19:153-156.

437 Larsen JH. The spectrum of clinical manifestations of infections with *Yersinia enterocolitica* and their pathogenesis. *Contrib Microbiol Immunol* 1979;5:257-269.

438 Larsen SA, Homer DR. Relation of breast versus bottle feeding to hospitalization for gastroenteritis in a middle-class U.S. population. *J Pediatr* 1978;92:417-418.

439 Lastovica AJ, Penner JL. Serotypes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in bacteremic, hospitalized children. *J Infect Dis* 1983;147:592.

440 Latorre OC, Morros JT, Vila CT. Gastroenterites por *Rotavirus* en pediatria. *An Esp Pediat* 1983;18:353-357.

441 Laveran H. Gastro-entérterites aigues infantiles à *Rotavirus*. *Med Mal Infect* 1978;8:4-8.

442 Lawers S, De Boeck M, Butzler JP. *Campylobacter* enteritis in Brussels. *Lancet* 1978;1:604-605.

443 Lee WH, McGrath, Carter PH, Eide EL. The ability of some *Yersinia enterocolitica* strains to invade HeLa cells. *Can J Microbiol* 1977;23:1714-1723.

444 Leinonen M. Detection of pneumococcal capsular polysacharide by latex agglutination, counter-imuunoelectrophoresis and radioimmunoassay in middle ear exsuadte in acute otitis media. *J Clin Microbiol* 1980;11:135-140.

445 Leite JP, Pereira HG, Azeredo RS, Shatzmayr HG. *Adenovirus* in faeces of children with acute gastroenteritis in Rio de Janeiro. *J Med Virol* 1985;15:203-209.

446 Leksomboon U, Echeverria P, Suvongse C, Duangmani C. Viruses and bacteria in pediatric diarrhea in Thailand: a study of multiple antibiotic-resistant enteric pathogens. *Am J Trop Med Hyg* 1981;30:1281-1290.

447 Lerner A, Ianco TC, Lando Z, Schomilowitz M, Kretzer B. Seizures associated with *Campylobacter jejuni* enteritis. *Pediatr Infect Dis* 1984;3:281.

448 Levine MM, DuPont HL, Formal SB. Pathogenesis of *Shigella dysenteriae* I (Shiga) dysentery. *J Infect Dis* 1973;127:261-270

449 Levine MM, DuPont HL, Gangarosa EJ. Shigellosis in custodial institutions. II. Clinical, immunological and bacteriologic response of institutionalized children to oral attenuated *Shigella* vaccines. *Am J Epidemiol* 1972;96:40

450 Levine MM, Edelman R. Acute diarrheal infections in infants. I. Epidemiology, treatment, and prospects for immunoprophylaxis. *Hosp Prat* 1979;14:89-100.

451 Levine MM, Edelman R. Enteropathogenic *Escherichia coli* of classic serotypes associated with infant diarrhea: epidemiology and pathogenesis. *Epidemiol Rev* 1984;6:31-51.

452 Levine MM, Nataro JP, Karch H, Baldini MM, Kaper JB, Black RE, Clements ML, O'Brien AD. The diarrheal response of man to some classical enteropathogenic *Escherichia coli* is dependent on a plasmid encoding an enteroadhesiveness factor. *J Infect Dis* 1985;152:550-559.

453 Levine MM. Bacillary dysentery: mechanism and treatment. *Med Clin N Am* 1982;66:623-638.

454 Levine MM. *Escherichia coli* that cause diarrhea: Enterotoxigenic, Enteropathogenic, Enteroinvasive, Enterohemorrhagic, and Enteroadherent. *J Infect Dis* 1987;155:377-389.

455 Levinson JD, Nastro LJ. Giardiasis with total villous atrophy. *Gastroenterology* 1978;74:271-275.

456 Lewis HM, Parry JV, Davies HA, Parry RP, Mott A, Dourmashkin RR, Sanderson PJ, Tyrrell DAJ, Valman HB. A year's experience of the *Rotavirus* syndrome and its association with respiratory illness. *Arch Dis Child* 1979;54:339-346.

457 Lieberman E, ed.. *Clinical Pediatric Nephrology*. Philadephia: JB Lippincott Co, 1976.

458 Liebman WM. Recurrent diarrhea in older children associated with enteropathogenic *Escherichia coli*. *Am J Gastroenterol* 1978;70:664-666.

459 Lifschitz CH, Irving CS, Gopalakrishma GS, Evans K, Nichols BL. Carbohydrate malabsorption in infants with diarrhea studied with breath hydrogen. *J Pediatr* 1983;102:371-375.

460 Light JS, Hodes HL. Studies on epidemic diarrhea of the new-born: isolation of a filtrable agent causing diarrhea in calves. *Am J Public Health* 1943;33:1451-1454.

461 Light JS, Hodes HL. Isolation from cases of infantile diarrhea of a filtrable agent causing diarrhea in calves. *J Exp Med* 1949;90:113-135.

462 Lindquist B, Kjellander J, Kosunen T. *Campylobacter* in Sweden. *Lancet* 1978;1:303.

463 Lloyd-Evans N, Drasar BS, Tomkins AM. A comparison of prevalence of *Campylobacter*, *Shigella* and *Salmonella* in faeces of malnourished and well nourished children in Gambia and Northern Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1983;77:245-247.

464 Lodinovar R, Traskalova-Hogenova H, Kolesovova L. Importance of breatfeeding for the defense of newborn against infection. Antibody activity and immunocompetent cells of breast milk. *Cs Pediat* 1981;36:639-642.

465 Lopez Brea M, Molina D, Baquero M. *Campylobacter* enteritis in Spain. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1979;73:474.

466 Lopez CE, Dykes AC, Juranek DD, et al.. Waterborne giardiasis: a community-wide outbreak of disease and a high rate of assymptomatic infection. *Am J Epidemiol* 1980;112:495-507.

467 Lopez I, Cabiol C, Arcuch S. Lactancia materna y morbilidad por diarrea y desnutrición en el primer año de vida. *Rev Chil Pediat* 1982;53:162-167.

468 Lourenço MH, Nicolas JC, Cohen J, Scherrer R, Bricout F. Study of human *Rotavirus* genome

by electrophoresis: attempt of classification among strains isolated in France. *Ann Virol* (Inst. Pasteur) 1981;132:161-173.

469 Lourenço MH, Nicolas JC, Santos Ferreira MO, Bricout F. Presence of three *Rotavirus* electrophoretypes in young children hospitalized in Lisbon in 1980-1981. *Ann Virol* (Inst. Pasteur) 1982;133:95-106.

470 Louria DB, Stiff DP. Disseminated moniliasis in the adult. *Medicine* 1962;41:307

471 Luna Jaramil M, Munoz CC, Rui Gomez J. Anticuerpos contra *Rotavirus* y estirpe imunolgica de los mismos, en sueros de niños menores de un año. *Salud Publ Mex* 1983;25:373-377.

472 MacLeod J, Hamilton JR. Absence of electroneutral NaCl transport in jejunal crypt-type epithelium (abstract). *Gastroenterology* 1984;86:1132

473 MacLeod J, Keljo D, Hamilton JR. Brush border membrane vesicle(BBMV) D-glucose transport in acute viral diarrhea. Equilibrium kinetic studies (abstract). *Gastroenterology* 1984;86:1170

474 Madeley CR, Cosgrove BP, Bell EJ, Fallon RJ. Stools viruses in babies in Glasgow. I. Hospital admissions with diarrhoea. *J Hyg* 1977;78:261-273.

475 Madeley CR, Cosgrove BP, Bell EJ. Stool viruses in babies in Glasgow. 2 . Investigation into normal babies in hospital. *J Hyg* 1978;81:285-294.

476 Madeley CR, Cosgrove BP. *Calicivirus* in man. *Lancet* 1976;1:199-200.

477 Madeley CR. Viruses in the stools. *J Clin Pathol* 1979;32:1-10.

478 Magazzù G, Jacono G, Di Pasquale G, Sferlazzas C, Tedeschi A, Santoro S, Nibali SC, Musso F, Balsamo V. Reability and usefulness of random fecal alpha1-antitrypsin concentration: Further simplification of the method. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1985;4:402-407.

479 Mahalanabis D, Simpson TW, Chakraborty Ml, et al.. Malabsorption of water-miscible vitamin A in children with giardiasis and ascaridiasis. *Am J Clin Nutr* 1979;32:313-318.

480 Mahalanabis D, Wallace CK, Kallen et al.. Water and electrolyte losses due to *Cholera* in infants and small children: a recovery balance study. *Pediatrics* 1970;3:374-385.

481 Mahmoud AAF, Warren KS. Algorithms in the diagnosis and management of exotic diseases. II. Giardiasis. *J Infect Dis* 1975;131:621-624.

482 Maidin MA. Enterotoxigenic *Escherichia coli* as a cause of paediatric diarrhoea in Unjung Pandang, Indonesia. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1983;77:54-61.

483 Mäki M, Gronroos P, Vesikari T. In vitro invasiveness of *Yersinia enterocolitica* isolated from children with diarrhea. *J Infect Dis* 1978;138:677-680.

484 Mäki M, Gronroos P, Vesikari T. Faecal leucocytes in *Campylobacter*-associated diarrrhea in infants. *Acta Paediatr Scand* 1979;68:271-272.

485 Mäki M, Harmoinen A, Vesikari T, Visakopi JK. Fecal excretion of alpha1-antitrypsin in acute diarrhea. *Arch Dis Child* 1982;57:154-156.

486 Mäki M, Harmoinen A, Vesikari T, Visakorpi JK. Faecal excretion of alpha-1-antitrypsin in acute diarrhoea. *Lancet* 1978;2:763-764.

487 Mäki M, Vesikari T, Gronroos P. Enterotoxigenic and invasive *Escherichia coli* as causes of childhood diarrhoea in Finland. *Acta Paediatr Scand* 1980;69:219-224.

488 Mäki M, Vesikari T, Rantala I, Gronroos P. Yersinosis in children. *Arch Dis Child* 1980;55:861-865.

489 Mäki M. A prospective clinical study of *Rotavirus* diarrhoea in young children. *Acta Paediatr Scand* 1981;70:107-113.

490 Malowany M, Lewin S, Geller M, et al.. Seizures associated with *Campylobacter* enteritis. *Am J Dis Child* 1982;136:1028-1031.

491 Mandell F, Fellers FX. Hyperglycemia in hypernatremic dehydrations. *Clin Pediatr* 1974;13:367-369.

492 Manier R, Wells TG, Swanson RC, Callahan W, Mehlman IJ. An outbreak of enteropathogenic *Escherichia coli* food borne disease traced to imported French cheese. *Lancet* 1973;2:1376-1378.

493 Manuel PD The management of acute gastroenteritis and its complications. In: Manuel PD, Walker-Smith JA, Tomkins A, eds. *Infections of the gastrointestinal tract*. New York: Churchil Livingstone, 1986:112-142.

494 Manuel PD, Walker-Smith JA. Decline of hypernatremia as a problem in gastroenteritis. *Arch Dis Chil* 1980;55:124-127.

495 Markell EK. Intestinal Nematode infections. *Ped Clin N Am* 1985;32:971-986.

496 Marks MI, Pai CH, Lafleur L, Lackman L, Hammerberg O. *Yersinia enterocolitica* gastroenteritis: a prospective study of clinical, bacteriologic, and epidemiologic features. *J Pediatr* 1980;96:26-31.

497 Mason BB, Graham DY, Estes MK. In vitro transcription and translation of simian *Rotavirus* SA11 gene products. J Virol 1980;33:111-1112.

498 Mason BB, Graham DY, Estes MK. Biochemical mapping of the simian *Rotavirus* SA11 genome. *J Virol* 1983;46:413-423.

499 Mason JO. Enteric disease and health for all: a public health perspective. *Pediatr Infect Dis* 1986;5:S7-S10.

500 Mata LJ, Bolanos H, Pizarro D. Cryptosporidiosis in children from highland Costa Rican rural and urban areas. *Am J Trop Med Hyg* 1984;33:24-29.

501 Mata LJ, Simhon A, Padilla R, Gamboa MM, Vargas G, Hernandez F, Mohs E, Lizano C. Diarrhea associated with *Rotavirus*, enterotoxigenics *Escherichia coli*, *Campylobacter*, and other agents in Costa Rica children. *Am J Trop Med Hyg* 1983;32:146-153.

502 Mata LJ, Wyatt RG. The uniqueness of the human milk. Host resistence to infection. *Am J Clin Nutr* 1971;24:976-986.

503 Mata LJ. Breast-feeding: main promotor of infant health. *AM J Clin Nutr* 1979;31:2058=2065.

504 Mata LJ.Global importance of diarrhoeal disease and malnutrition. In: Michael Gracey ed.. *Diarrhoeal disease and malnutrition*. London: Churchill Livingstone, 1985:1-14

505 Mata LJ. Malnutrition-infection interactions in the tropics. *Am J Trop Med Hyg* 1975;24:564-574.

506 Mata LJ. Epidemiology of acute diarrhea in childhood: an overview. In: Bellanti JA,ed..*Acute Diarrhea: Its Nutritional Consequences in Children*. New York: Nestlé, Vevey/Raven Press, 1983:3-22.

507 Mata LJ. *The children of Santa Maria cauque: a prospective field study of health and growth*. Cambridge: MIT Press, 1978.

508 Mathewson JJ, DuPont HL, Morgan DR, Thornton SA, Ericson CD. Enteroadherent *Eschericia coli* associated with traveller's diarrhoea. *Lancet* 1983;1:1048.

509 Mathewson JJ, DuPont JL, Morgan DL, Thomton SA, Ericcson CD. Enteroadherent *Escherichia coli* associated with travellers'diarrhoea. *Lancet* 1983;1:1048.

510 Mathewson JJ, Johnson PC, DuPont HL, Morgan DR, Thornton SA, Wood LV, Ericsson CD. A newly recognized cause of travelers' diarrhea: enteroadherent *Escherichia coli*. *J Infect Dis* 1985;151:471-475.

511 Mathewson JJ, Johnson PC, DuPont HL, Satterwhite TK, Winsor DK. Pathogenicity of enteroadherent *Escherichia coli* in adult volunteers. *J Infect Dis* 1986;154:524-527.

512 Mauss G, Baumeister HG. *Coronavirus*-like particles as aetiological agents of acute non-bacterial gastroenteritis in humans. *Dev Biol Stand* 1982;53:319-324.

513 Maya PP, Pereira SM, Mathan M, Bhat P, Albert MJ, Backer SJ. Aetiology of acute gastroenteritis in infancy and childhood in shouthern India. *Arch Dis Child* 1977;52:482-485.

514 McCardell BA, Madden JM, Lee EC. Production of cholera-like toxin by *Campylobacter jejuni/coli*. *Lancet* 1984;1:448-449.

515 McCarthy PL, Frank AL, Ablow RC, Masters SJ, Dolan TF Jr. C-reactive protein test in the differentiation of bacterial and viral pneumonia. *J Pediatr* 1978;92:454.

516 McCarty P, Frick OL. Food sensitive: keys to diagnosis. *J Pediatr* 1983;102:645-655.

517 McClelland DBL, McGrath JJ, Samson RR. Antimicrobial factors in human milk. *Acta Paediatr Scand* 1978;271 suppl:1-20.

518 McClelland DBL. In: *Immunology of the gastrointestinal tract*. Peter Asquith ed. London: Churchil Livingstone, 1979,227

519 McCrae MA, Faulkner-Valle GP. Molecular biology of rotaviruses. I. Characterization of basic growth parameters and pattern of macromolecular synthesis. *J Virol* 1981;39:490-496.

520 McFarlane H, Reddy S, Adcock KJ, Adeshiar H, Cooke AR, Akene J. Immunity, transferrin and survival in Kwashiorkor. *Br Med J* 1970;4:268-270.

521 McKinlay B. Infectious diarrhea in the new-born caused by an unclassified species of *Salmonella*. *Am J Dis Child* 1937;54:1252-1256.

522 McLaren DS, Read WWC. Weight/length classification of nutritional status. *Lancet* 1975;2:219-221.

523 Mclean BS, Holmes IH. Transfer of antirotaviral antibodies from mothers to their infants. *J Clin Microbiol* 1980;12:320-325.

524 McLean BS, Holmes IH. Effects of antibodies, trypsin and trypsin inhibitors on susceptibility of neonates to *Rotavirus* infection. *J Clin Microbiol* 1981;13:22-29.

525 Mehlaman IJ, Eide EL, Sanders AC, Fishbein M, Alusio CCG. Methodology for recognization of invasive potential of *Escherichia coli*. *J AOAC* 1977;60:546-562.

526 Mendonça SB, Ferreira OS. Citologia fecal e leucograma no diagnóstico da enterite bacteriana. *J Pediatr* (Rio de Janeiro) 1981;51:241-243.

527 Mentzing LO. Waterborne outbreaks of *Campylobacter* enteritis in Central Sweden. *Lancet* 1981;2:352-354.

528 Merson MH, Orskov F, Orskov I, Sack RB, Huq I, Koster FT. Relationship between enterotoxin prodution and serotype in enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1979;23:325-329.

529 Merson MH, Rowe B, Black RE et al.. Use of antisera for identification of enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Lancet* 1980;2:222-224.

530 Merson MH. The global problem of acute diarrhoeal diseases and the WHO diarrhoeal diseases controle program. In: Takeda Y, Miwatani T, ed. *Bacterial Diarrhea diseases*. Tokyo: KTK Scientific Publishes, 1985:1-10.

531 Meuwissen JHE, Tongeren JHM, Werkman HPT. Giardiasis. *Lancet* 1977;2:32-33.

532 Michala K, Coonney DR, Rhodes KH. Gastrointestinal mucomycosis in infants and children. *J Pediatr Surg* 1980;15:320-324.

533 Middiebrook JL, Dorland RB. Bacterial toxins: cellular mechanisms of action. *Microbiol Rev* 1984;48:199-221.

534 Middleton PJ, Szymanski MT, Abbott GD, Bortolussi R, Hamilton JR. *Orbivirus* acute gastroenteritis of infancy. *Lancet* 1974;1:1241-1244.

535 Middleton PJ, Szymanski MT, Petric M. Viruses associated with acute gastroenteritis in young children. *Am J Dis Child* 1977;131:733-737.

536 Middleton PJ. Pathogenesis of rotaviral infection. *J Am Vet Med Assoc* 1978;173:544-546.

537 Middleton PJ. Role of the viruses in pediatric intestinal disease and epidemiological factors. In: Tyrrel DA, Kapikian AZ, eds.. *Virus infection of the gastrointestinal tract*. New York: Marcell Decker, 1982:211-225

538 Mikovic M. Diarrhea in infants and children due to enteropathogenic *Escherichia coli*. *Jugos Pedijat* 1979;22:55-59.

539 Mintz CS, Cliver DO, Deibel RH. Attachment of *Salmonella* to mammalian cells in vitro. *Can J Microbiol* 1983;29:1731-1735.

540 Mnatskanov ST. Colonization factors in *Escherichia coli* isolated from children with acute intestinal diseases. *Zh Mikrobiol* (Mosk) 1983;7:41-43.

541 Moffet HL, Shulemberger HK, Burkholder ER. Epidemiology and etilogy of severe infantile diarrhoea. *J Pediatr* 1968;72:1-14.

542 Mol P, Hemelhof W, Butzler JP, Brasseur D, Kalaia T, Vis HL. Enterophatogenic agents in children with diarrhoea in rural Zaire. *Lancet* 1983;1:516-518.

543 Molla AM, Rahman M, Sarker SA, et al.. Stool electrolyte conten and purging rates in diarrhea caused by *Rotavirus*, enterotoxigenic *E. coli* and *V. cholerae* in children. *J Pediatr* 1981;98:835-838.

544 Mondon CE, Dolkas CB, Reaven GM. Effect of acute uremia on insulin removal by the isolated perfused rat liver and muscle. *Metabolism* 1978;27:133-142.

545 Monoghan H, Garvey RG, Egan-Mitchel B, Noone P, Flynn J, McNicholl B. Giardiasis in infancy diarrhea. *Arch Dis Child* 1980;55:715-727.

546 Moon HW, Whipp SC, Argenzio Ra, et al.. Attaching and effacing activities of rabbit and human enteropathogenic *Escherichia coli* in pig and rabbit intestines. *Infect Immun* 1983;41:1340-1351.

547 Morinet F, Ferchal F, Colimon R, et al.. Comparison of six methods for detecting human *Rotavirus* in stools. *Eur J Clin Microbiol* 1984;3:136-140.

548 Morris GK, Feeley JC. *Yersinia enterocolitica*: A review of its role in food hygiene. *Bull WHO* 1976;54:79

549 Morris GK, Koehler JA, Gangarosa EJ, Sharrar RG. Comparison of media for direct isolation and transpor of *Shigella* from fecal specimens. *Appl Microbiol* 1970;19:434-437.

550 Morris GK, Merson MH, Sack DA, Wells JG, Martin WT,De Witt WE, Feeley JC, Sack RB, Bessudo DM. Laboratory investigation of diarrhea in travellers to Mexico: Evaluation of methods for detecting enterotoxigenic *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 1976;3:486-495.

551 Mors V, Pai CH. Pathogenic properties of *Yersinia enterocolitica*. *Infect Immun* 1980;28:292-294.

552 Mota HC, Nereu V, Aires C, Colaço U, Malaquias A. Internamento de curta duração em situações de urgência. *Rev Port Pediatr* 1979;10:324-339.

553 Mota HC. Aleitamento materno: vantagens e dificuldades. In: Direcção Geral de Saúde e Sociedade Potuguesa de Pediatria, ed. *Alimentação do lactente*. Lisboa, 1976:124-137.

554 Munasira SC, Bhargava SK. Incidence of shigellosis among paediatric diarrhoeal disorders (a bacteriological study). *J Indian Assoc* 1984:82:279-281.

555 Munoz HO. Gastroenterite infecciosa aguda. Etiologia y su correlacion con las manifestaciones clinicas y el moco fecal. *Arch Invest Mex* 1979;10:135-145.

556 Murphy A, Albrey M, Crewe E. *Rotavirus* infection in neonates. *Lancet* 1977;2:1149-1150.

557 Murray BE, Evans DJJr, Peñaranda ME,Evans DG. CFAI-ST plasmids: comparison of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) of serogroup O25, O63, O78 and O128 and mobilization from an R factor containing epidemic ETEC isolats. *J Bacteriol* 1983;153:566-570.

558 Naguib T, Wyatt RG, Mohieldin MS, Zaki AM, Imam IZ, Du Pont HL. Cultivation and subgroup determination of human rotaviruses from Egyptian infants and young children. *J Clin Microbiol* 1984;19:210-212.

559 Nair GB, Bhattacharya SR, Pal SC. Isolation and characterization of *Campylobacter jejuni* from acute diarrhoeal cases in Calcutta. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1983;77:474-476.

560 Nakata S, Chiba S, Terashima M, Sakuma Y, Kogasaka R, Nakao T. Microtiter solid-phase radioimmunoassay for detection of human *Calicivirus* in stool. *J Clin Microbiol* 1983;17:198-201.

561 Nalin DR, Harland E, Ramlal A, et al.. Comparison of low and high sodiunm and potassium content in oral rehydratation solutions. *J Pediatr* 1980;98:848-853.

562 Nalin DR, Levine MM, Mata L, et al.. Comparison of sucrose with glucose in oral therapy of infant diarrhea. *Lancet* 1978;2:277-279.

563 Naqvish SH, Dunkle LM, Clapper MA. Age-specific presentation of *Campylobacter* enteritis in children. *Clin Pediatr* 1983;22:98-100.

564 Narayanan I, Prakash K, Prabhakar Ak, Gurjral W. A planned prospective evaluation of the anti-infective property of varying quantities of expressed human milk. *Acta Paediatr Scand* 1982;71:441-445.

565 Nataro JP, Baldini MM, Kaper JB, Black RE, Bravo N, Levine MM. Detection of an adherence factor of enteropathogenic *Escherichia coli* with a DNA probe. *J Infect Dis* 1985;152:560-565.

566 Nataro JP, Scaletsky ICA, Kaper JB, Levine MM, Trabulsi, LR. Plasmid-mediated factors confering diffuse and localized adherence of enteropathogenic *Escherichia coli. Infect Immun* 1985;48:378-382.

567 Nelson EW,ed. *Textbook of Pediatrics* (11th ed.). Philadelphia: Saunders, 1979.

568 Nelson JD. Etiology and epidemiology of diarrheal diseases in United States. *Am J Med* 1985;78(suppl 6B):76-80

569 Netter E, Westphal O, Luderitz O, Gino RM, Gorzynsky EA. Demonstration of antibodies against enteropathogenic *Escherichia coli* in sera of children of various ages. *Pediatrics* 1955;16:801-808.

570 Netter E. *Escherichia coli*: An Enteric Pathogen. J *Pediatr Gastroenterol Nutr* 1983;2:201-203.

571 Newell DG, Pearson AD. Pathogenicity of *Campylobacter jejuni* as an in vitro model of adhesion and invasion? In: Newell DG, ed. *Campylobacter*. Lancaster: MTP Press, 1982:196-198.

572 Newman JFE, Brown F, Bridger JC, Woode GN. Characterization of a *Rotavirus. Nature* 1975;258:631-633.

573 Newsome PM, Lorsney KA. Synergic *Rotavirus* and *Escherichia coli* diarrhoeal infections of mice. *Infect Immun* 1985;47:573-574.

574 Nichols BL, Soriano HA. A critique of oral therapy of dehydration due to diarrheal syndrome. *Am J Clin Nutr* 1977;30:1457-1472.

575 Nicolas JC, Lourenço MH, Marchal S, Cohen J, Scherrer R, Bricout F. Description of a very simplified method for *Rotavirus* dsRNA extraction. *Ann Virol* (Inst. Pasteur) 1983;134:135-139.

576 Nicolas JC, Pothier P, Cohen J, Lourenco MH, Thompson R, Guimbaud P, Chenon A, Dauvergne M, Bricout F. Survey of human *Rotavirus* propagation as studied by electrphoresis of genomic RNA. *J Infect Dis* 1984;149:688-693.

577 Nitzan M, Zelmanovsky S. Glucose intolerance in hypernatraemic rats. *Diabetes* 1968;17:579-581.

578 Norberto TS, Guerra AJ, Morais MR, Tovar MJ, Neves P, Lourenço L, Silva M. Estudo sobre a prevalência e duração do aleitamento materno em comunidades Potuguesas, suburbanas e rurais. *Rev Port Pediatr* 1984;15:3-48.

579 Nusslé D, Tabin R. Entérites à *Rotavirus* chez l'enfant. *Helv Paediatr Acta* 1980;suppl 44:1-28.

580 O'Brien AD, Chen ME, Holmes RK. Environmental and human isolates of *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus* produce a *Shigella dysenteriae* 1 (Shiga) like cytotoxin. *Lancet* 1984;1:77-78.

581 O'Brien AD, LaVeck GD, Thompson MR, Formal SB. Production of *Shigella dysenteriae* type 1-like cytotoxin by *Escherichia coli. J Infect Dis* 1982;146:763-769.

582 O'Brien AD, Lively TA, Chang TW, Gorbach SL. Purification of *Shigella dysentriae* 1(Shiga) like toxin from *Escherichia coli* O157:H7 strain associated with haemorrhagic colitis. *Lancet* 1983;2:573.

583 O'Brien AD, Lively TA, Chen ME, Rothman SW, Formal SB. *Escherichia coli* O157:H7 strains associated with haemorrhagic colitis in the United States produce a *Shigella dysenteriae* 1 (Shiga) like cytotoxin. *Lancet* 1983;1:702.

584 Ogra PL, Fishaut M, Theodore C. In: Freier S, Eidelman AI, eds.. *Human milk: its biological and social value*. Amsterdam:Excerpta Médica, 1980:115-121.

585 Ojofeitimi EO, Elegbe IA. The effect of early initiation of colostrum feeding on proliferation of intestinal bacteria in neonates. *Clin Pediatr* 1982;21:39-42.

586 Okamoto K, Inque T, Ichikawa H, Kawamoto Y, Myarna A. Partial purification and carachterization of heat-labil enterotoxin produced by *Yersinia enterocolitica*. *Infect Immun* 1981;31:554-559.

587 Old DC. Inhibition of the interaction between fimbrial haemaglutinins and erythrocytes by D-manose and others carbohydrates. *J Gen Microbiol* 1972;71:149-157.

588 Opas LM, Adler R, Robinson R, et al. Rhabdomyolysis with severe hypernatremia. *J Pediatr* 1977;90:713-716.

589 Orskov F, Orskov J. Serotyping of Escherichia coli. In: Bergan T, ed. *Methods in microbiology*. Vol. XIV. London: Acad. Press, 1984:43-112.

590 Orskov F. Virulence factors of the bacterial cell surface. *J Infect Dis* 1978;137:630-633.

591 Orskov I, Orskov F, Jann B, Jann K. Serology, chemistry, and genetics of O and K antigens of *E. coli*. *Bacteriol Rev* 1977;41:667-710.

592 Orskov I, Orskov F. Special O:K:H serotypes among enterotoxigenic *Escherichia coli* strains from diarrhea in adults and children. Occurrence of the CF (colonization factor) antigen and of haemagglutinating abilities. *Med Microbiol Immunol* 1977;163:99-110.

593 Orstavik I, Fingeschau KJ, Haug KW, Ulstrup JC. A *Reovirus*-like agent (*Rotavirus*) in gastroenteritis of children: Vírus detection and serological studies. *Scand J Infect Dis* 1976;8:1-5.

594 Orstravik I, Hang KW, Sovde A. *Rotavirus* associated gastroenteritis in two adults caused by virus infection. *Scand J Infect Dis* 1976;8:272-278.

595 Osterholm MT, Forfang JC, Ristinen TL, et al.. An outbreak of foodborne giardiasis. *N Engl J Med* 1981;304:24-28.

596 Owen RL, Nemanic PC, Stevens DP. Ultrastructural observations on giardiasis in a murine model. Intestinal distribuition, attachment and relationship to the immune system of *Giardia muris*. *Gastroenterology* 1979;76:755-969.

597 Pai CH, Chabrabadi MS, Ince B. Rapid diagnosis of *Rotavirus* gastroenteritis by a commercial latex agglutination test. *J Clin Microbiol* 1985;22:846-850.

598 Pai CH, Gillis F, Marks MI. Infection due to *Yersinia enterocolitica* in children with abdominal pain. *J Infect Dis* 1982;146:705.

599 Pai CH, Mors V. Production of enterotoxin by *Yersinia enterocolitica*. *Infect Immun* 1978;19:909-911.

600 Pai CH, Sorger S, Lackman L, Sinai R, Marks MI. *Campylobacter* gastroenteritis in children. *J Pediatr* 1979;94:589-591.

601 Pai CH. Infection due to *Yersinia enterocolitica* in children with abdominal pain. *J Inf Dis* 1982;146:705.

602 almer DL, Koster FT, Alam AKMJ, Islam MR. Nutrtional states: a determinant of severity of diarrhea in patients with cholera. *J Infect Dis* 1967;134:8-14.

603 Palmer SR, Gully PR, White JM, Pearson AD, Suckling WG, Jones DM, Rawes JC, Penner JL. Water-borne outbreak of *Campylobacter* gastroenteritis. *Lancet* 1983;1:287-290.

604 Patterson WJ, Bell EJ. Poliomyelitis in a nursery school in Glasgow. *Br Med J* 1963;1:1574-1576.

605 Paul MO, Erinle EA. Influence of humidity on *Rotavirus* prevalence among Nigerian infants and young children with gastroenteritis. *J Clin Microbiol* 1982;15:212-215.

606 Pearson AD, Suckling WG, Ricciardi ID. *Campylobacter* associated diarrhoea in Shouthamptom. *Br Med J* 1977;2:955.

607 Pederson KB, Winiblad S, Bitsh V. Studies on the interaction between different O-serotypes of *Yersinia enterocolitica* and HeLa cells. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1979;87:141-145.

608 Peigue-Lafeille H, Laveran H, Meyer M, Laluque JB, Beytout D. Bilan etiologique de 403 gastroentérites infantiles. Intérêt de la numération des leucocytes dans les selles. *Med Mal Infect* 1981;11:519-523.

609 Penaranda ME, Mann MB, Evans DG, Evans DJ Jr. Transfer of an ST/LT CFA II plasmid into *Escherichia coli* K-12 strain RR1 by cotransformation with PSC301 plasmid DNA. *FEMS Microbiol Lett* 1980;8:251-254.

610 Pereira HG, Azeredo RS, Leite JPG et al.. Comparação da electroforese em gel de poliacrilamida, imunomicroscopia electronica (IEM) e métodos imunoenzimáticos (EIA) no diagnóstico rápido da infecção por *Rotavirus* em crianças. *Memo Instit Oswaldo Cruz* 1983;78:483-490.

611 Perklemm P. Fimbrial adhesins of *E.coli*. *Rev Infect Dis* 1985;7:321-340.

612 Persson BL, Thorén A, Tufvesson B, Walder M. Diarrhoea in Swedish infants. Aetioly and clinical appearance. *Acta Paediatr Scand* 1982;71:909-913.

613 Peterson JW, Molina NC, Houston CW, Fader RC. Elevated cAMP in intestinal epithelial cells during experimental cholera and salmonellosis. *Toxicon* 1983;21:761-775.

614 Peterson JW, Sandefur PD. Evidence of a role for permeability factors in the pathogenesis of salmonellosis. *Am J Clin Nutr* 1979;32:197-209.

615 Petrie BL, Graham DY, Estes MK. Identification of *Rotavirus* particle type. *Intervirology* 1981;16:20-28.

616 Pickering LK, DuPont HL, Olarte J, Conklin R, Ericsson C. Fecal leucocytes in enteric infections. *Am J Clin Pathol* 1977;68:562-565.

617 Pickering LK, DuPont HL, Olarte J, Conklin R, Ericsson C. Fecal leucocytes in enteric infections. *J Infect Dis* 1981;144:218-224.

618 Pickering LK, Evans DG, DuPont HL. Diarrhea due to *Shigella*, *Rotavirus* and *Giardia* in day care centers: prospective study. *J Pediatr* 1981;99:51-56.

619 Pickering LK, Evans DJJr, Munoz O, DuPont HL, Coello-Ramirez, Vollet JJ, Conhlim RH, Olarte J, Kohl S. Prospective study of enteropathogens in children with diarrhea in Houston and Mexico. *J Pediatr* 1978;93:383-388.

620 Pickering LK. *Rotavirus* infection. *Pediatr Infect Dis* 1985;4:S2-S6.

621 Pierce NF, Greenough WB, Carpenter CCJ. *Vibrio cholerae* enterotoxin and its mode of action. *Bacteriol Rev* 1971;35:1

622 Pierce NF, Hirschhorn N. La réhydratation par voie buccale: un moyen simple de combattre la diarrhée. *Chronique OMS* 1977;31:91-98.

623 Poley JR, Rosenfield S. Malabsorption in Giardiasis: presence of luminal barrier (mucoid pseudomembrane). A scanning and transmission electron microscopic study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1982;1:63-80.

624 Pollock HM, Dahlgren BJ. Clinival evaluation of enteric media in the primary isolation of *Salmonella* and *Shigella*. *Appl Microbiol* 1974;27:197-201.

625 Polotsky YE, Dragunskaya EM, Seliverstova VG,Avdeeva TA, Chakhutingskaya MG, Kétyi I, Vertényi A, Ralovich B, Emody L, Malovics I, Safonova NV,Smigeirevskaya ES, Karyaginu EI. Pathogenic effect of enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Escherichia coli* causing infantile diarrhoea. *Acta Microbiol Acad Sci Hung* 1977;24:221-236.

626 Portnoy DA, Moseley SL, Falkow S. Characterization of plasmid-associated determinants of *Yersinia enterocolitica* pathogenesis. *Infect Immun* 1981;31:775-782.

627 Price AB, Jewkes J, Sanderson PJ. Acute diarrhoea: *Campylobacter* colitis and the role of rectal biopsy. *J Clin Pathol* 1979;32:990

628 Puel J, Orillac M, Dueymes M, et al.. Les agents étiologiques des diarrheés virales infantiles à Toulouse. *Ann Pediat* 1983;30:427-432.

629 Pullan CR, Dellagrammatikas H, Steiner H. Survey of gastroenteritis in children admitted to hospital in Newcastle upon Tyne in 1971-1975. *Br Med J* 1977;1:619-621.

630 Quinn TC, Bender BS, Bartelett JG. New devellopments in infectious diarrhea. In: *Year Book Medical Publishers*. Chicago, 1986;32:172-243.

631 Rabinowitz L, Joffe BI, Abkiewicz C, Shires R, Greef MC, Seftel HC. Hyperglycaemia in infantile gastroenteritis. *Arch Dis Child* 1984;59:771-775.

632 Rao MC, Guandalini S, Smith PL, Field M. Mode of action of heat-stable *Escherichia coli* enterotoxin. Tissue and subcellular specificities and role of cyclic GMP. *Biochim Biophys Acta* 1980;632:35-46.

633 Rao MR, Orellana SA, Field M, Robertson DC, Giannella RA. Comparison of the biological actions of three purified heat-stable enterotoxins: effects on ion transport and guanylate cyclase acivity in rabbit ileum in vitro. *Infect Immun* 1981;33:165-170.

634 Raynaud EJ, Peigue H, Meyer M. Les gastro-entérites virales de l'enfant. *Concours Med* 1982;104:4977-4983.

635 Reinhardt MC, Steward MW. Antibody affinity and clearance function studies in high and low affinity mice. The effect of protein deficiency. *Immunology* 1979;38:735-739.

636 Reis MH, Guth BE, Gomes TA, Murahovschi J, Trabulsi LR. 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* 1982;15:1062-1064.

637 Reiter B. Role of nonantibody proteins in milk in the protection of the newborn. In: Williams AF Baum JD, eds..*Human milk banking*. New York: Nestlé Nutrition, 300. Rennels MB, Levine MM. Classical bacterial diarrhea: perspectives and update - *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Aeromonas* and *Plesiomonas*. *Pediatr Infect Dis* 1986;5:S91-S100.

638 Reswick BH, Hejkal TW, Du Pont HL, Pickering LK. Evaluation of a commercial enzyme immunoassay kit for *Rotavirus* detection. *Diagnost Microbiol Inf Dis* 1983;1:111-115.

639 Retter M, Middleton PJ, Tam JS, Petric M. Enteric adenoviruses: detection, replication and significance. *J Clin Microbiol* 1979;10:574-578.

640 Rettig JP. *Campylobacter* infections in human beings. *J Pediatr* 1979;94:855-864.

641 Ricciardi ID, Ferreira MC, Otto SS, Oliveira N, Sabra A, Fontes CF. Diarreia por *Campylobacter* termofílico no Rio de Janeiro. *Rev Bras Pesq Med Biol* 1979;12:189-191.

642 Riepenhoff-Talty M, Lee PC, Carmody PJ, Barrett HJ, Opra PL. Age-dependent *Rotavirus*-enterocyte interactions. *Proc Soc Exp Biol Med* 1982;170:146-154.

643 Riepenhoff-Talty M. Local and systemic antibody response to *Rotavirus* infection. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1986;5:167-172.

644 Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, et al.. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med* 1983;308:681-685.

645 Ringertz S, Rockhill RC, Ringertz O, Sutomo A. *Campylobacter fetus subsp. jejuni* as a cause of gastroenteritis in Jakarta, Indonesia. *J Clin Microbiol* 1980;12:538-540.

646 Robert JW, Tipton G, William JK, Brown MR. Effect of breast-feeding on morbidity in *Rotavirus* gastroenteritis. *Pediatrics* 1984;74:250-253.

647 Robin-Browne RM. Traditional enteropathogenic *Escherichia coli* of infantile diarrhea. *Rev Infect Dis* 1987;9:28-53

648 Robins-Brown RM, Still CS, Miliotis MD, et al.. Summer diarrhoea in Africans infants and children. *Arch Dis Child* 1980;55:923-928.

649 Robins-Brown RM, Still CS, Miliotis MD, Koornhof HJ. Mechanism of action of *Yersinia enterocolitica* enterotoxin. *Infect Immun* 1979;26:680-684.

650 Robins-Brown RM. Seasonal and racial incidence of infantile gastroenteritis in South Africa. *Am J Epidemiol* 1984;119:350-355.

651 Robinson DA, Jones DM. Milk-borne *Campylobacter* infection. *Br Med J* 1981;282:1374-1376.

652 Rodger SM, Bishop RF, Birch C, McLean B, Holmes TH. Molecular epidemiology of human *Rotavirus* in Melbourne, Autrália, from 1973 to 1979, as determined by electrophoresis of genome ribonucleic acid. *J Clin Microbiol* 1981;13:272-278.

653 Rodger SM, Holmes IH. Comparison of the genomes of simian, bovine, and human *Rotavirus* by gel electrophoresis and detection of genomic variation among bovine isolates. *J Virol* 1979;30:839-846.

654 Rodger SM, Schnagl RD, Holmes IH. Biochemical and biophysical characterization of diarrhea viruses of human and calf origin. *J Virol* 1975;16:1229-1235.

655 Rodger SM, Schnagl RD, Holmes IH. Further biochemical characterization, including the detection of surface glycoproteins of human, calf, and simian rotaviruses. *J Virol* 1977;24:91-98.

656 Rodriguez WJ, Controni G, Gotten GJ et al.. *Yersinia enterocolitica* enteritis in children. *JAMA* 1978;242:1978-1979.

657 Rodriguez WJ, Kim HW, Arrobio AO, Brandt CD, Chanock RM, Kapikian AZ, Waytt RG, Parrot RH. Clinical features of acute gastroenteritis associated human *Reovirus*-like agent in infants and young children. *J Pediatr* 1977;91:188-193.

658 Rodriguez WJ, Kim HW, Arrobio JO, Brandt CD, Chanock RM, Kapikian AZ, Wyatt RG, Parrot RH. Clinical features of acute gastroenteritis associated with human *Reovirus*-like agent in infants and young children. *J Pediatr* 1977;91:188-193.

659 Rodriguez WJ, Kim HW, Brandt CD, Fletcher AB, Parrott RH. *Rotavirus*: a cause of nosocomial infection in the nursery. *J Pediatr* 1982;101:274-277.

660 Rodriguez WJ, Kim HW, Brandt CD, Yolken RH, Arrobio JO, Kapikian AZ, Chanock RM, Parrott RH. Sequential enteric illness associated with different *Rotavirus* serotypes. *Lancet* 1978;2:37.

661 Rodriguez WJ, Kim HW, Brandt CD, Yolken RH, Richardson M, Arrobio JA, Schwartz RH, Kapikian AZ, Chanock RM, Parrott RH. Common exposure outbreak of gastroenteritis due to type 2 *Rotavirus* with high secondary rate within families. *J Infect Dis* 1979;140:353-357.

662 Rohde JE, Northrup RS. Tacking science where the diarrhoea is. In: Elliot K, Knight J, eds. *Acute diarrhoea in childhood.* Ciba Foudation Symposium 42. Amsterdam: Elsevier, Excerpta Medica, 1976:339-358.

663 Rosenberg ML, Koplan JP, Wachsmuth IK et al.. Epidemic diarrhea at Crater Lake from enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Ann Int Med* 1977;86:714-718.

664 Rothbaum R, McAdams AJ, Giannella R, Partin JC. A clinicopathologyc study of enterocyte-adherent *Escherichia coli*: a cause of protacted diarrhea in infants. *Gastroenterology* 1982;83:441-454.

665 Rothbaum R, Partin JC, Saalfield K, McAdams AJ. An ultrastructural study of enteropathogenic *Escherichia coli* infectio in human infants. *Ultrastruct Pathol* 1983;4:291-304.

666 Rout WR, Formal SB, Dammin GJ, Giannella RA. Pathophysiology of *Salmonella* diarrhea in the rhesus monkey: intestinal transport, morphological and bacteriological studies. *Gastroenterology* 1974;67:59-70.

667 Rout WR, Formal SB, Giannella RA, Dammin GJ. Pathophysiology of *Shigella* diarrhea in the rhesus monkey: intestinal transport, morphological and bacteriological studies. *Gastroenterology* 1975;68:270-278.

668 Rowe B. Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC)-importance and pathophysilogy. In: Holm T, Holmgren J, Merson MH, Molby, eds. *Acute enteric infections in children. New prospects for treatment and prevention.* Amsterdam: Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1981:101-106.

669 Rubenstein AS, Miller MF. Comparison of an enzyme immunoassay with electron microscopic procedures for detecting *Rotavirus. J Clin Microbiol* 1982;15:938-944.

670 Ruitenwerf J, Muilwijk-van Alphen, Schaap GP. Characterization of rotaviral RNA isolated from children with gastroenteritis in two hospital in Rotterdam. *J Med Virol* 1983;12:71-78.810

671 Ryder RW, Reeves WC, Sack RB. Risks factors for fatal childhood diarrhoea: a case-control study from two remote Panamian islands. *Am J Epidemiol* 1985;121:605-610.

672 Ryder RW, Sack DA, Kapikian AZ, McLaughlin JC, Chakraborty J, Wells JG, Mizanur Rahman ASM, Merson JH. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Reovirus*-like agent in rural Bangladesh. *Lancet* 1976;1:659-663.

673 Ryder RW, Singh N, Reeves WC, Kapikian AZ, Greenberg HB, Sack RB. Evidence of immunity induced by naturally acquired *Rotavirus* and *Norwalk* virus infections in two remote Panamian islands. *J Infect Dis* 1985;151:99-105.

674 Sabara M, Babiuk LA, Gilchrist J, Misra V. Effect of tunicamycin on *Rotavirus* assembly and infectivity. *J Virol* 1982;43:1082-1090.

675 Sabara M, Deregt D, Babiuk LA, Misra V. Genetic heterogeneity within individual bovine *Rotavirus* isolates. *J Virol* 1982;44:813-822.

676 Sabara M, Gilchrist JE, Hudson GR, Babiuk LA. Preliminary characterization of an epitope involved in neutralization and cell attachment that is located on the major bovine *Rotavirus* glycoprotein. *J Virol* 1985;53:58-66.

677 Sack DA, Chowdhury AM, Eusof A et al.. Oral hydratation in *Rotavirus* diarrhea: a double-bind comparison of sucrose with glucose electrolyte solution. *Lancet* 1978;2:280-283.

678 Sack DA, McLaughlin JC, Sack RB, Orskov F, Orskov I. Enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from patients at a hospital in Dacca. *J Infect Dis* 1977;135:275-280.

679 Sack DA, Rhoads M, Molla A, Molla AM, Wahed MA. Carbohydrate malabsorption in infants with *Rotavirus* diarrhea. *Am J Clin Nutr* 1982;36:1112-1118.

680 Sack DA, Sack RB. Tests for enterotoxin *E.Coli* using Y-1 adrenal cells in minicultures. *Infect Immun* 1975;11:334.

681 Sack DA, Wells JG, Merson MH,Sack RB, Morris GK. Diarrhoea associated with heat-stable enterotoxin-producing strains of *Escherichia coli. Lancet* 1975;1:239-241.

682 Sack RB, Gorbach SL, Banwell JG, Jacobs B, Chatterjee BD, Mitra RC. Enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from patients with severe cholera-like disease. *J Infect Dis* 1971;123:378-385.

683 Sack RB, Hirshhorn N, Brownlee I, Cash RA, WoodWard WE, Sack DA. Enterotoxigenic *Escherichia coli*-associated diarrheal disease in Apache children. *N Engl J Med* 1975;292:1041-1045.

684 Sack RB, Pierce NF, Hirschhorn N. The current status of oral therapy in the treatment of acute diarrheal disease. *Am J Clin Nutr* 1978;31:2252-2257.

685 Sack RB. Serotyping of *E.coli. Lancet* 1976;1:1132.

686 Sack RB. Enterotoxigenic *Escherichia coli*: Identification and characterization. *J Infect Dis* 1980;142:279-286.

687 Sack RB. Human diarrheal disease caused by enterotoxigenic *Escherichia coli. Ann Rev Microbiol* 1975;29:333-353.

688 Sack RB. The epidemiology of diarrhea due to enterotoxigenic *Escherichia coli. J Infect Dis* 1978;137:639-640.

689 Saha TK, Ghosh TK. Invasion of small intestinal mucosa by *Giardia lamblia* in man. *Gastroenterology* 1977;72:402-405.

690 Sakuma Y, Chiba S, Kogasaka R, Terashima H, Nakamura S, Horino K, Nakao T. Prevalence of antibody to human *Calicivirus* in general population of Northen Japan. *J Med Virol* 1981;7:221-225.

691 Samadi AR, Islame R, Hug MI. Replacement of intravenous therapy by oral rehydration solution in a large treatment centre for diarrhoea with dehydration. *Bull WHO* 1983;61:471-476.

692 Samadi AR, Wahed MA, Islam MR, et al.. Consequences of hyponatremia and hypernatremia in children with acute diarrhea in Bangladesh. *Br Med J* 1982;286:671-673.

693 Sambourg M, Goudean A, Courant C, Pinon G, Denis F. Direct aproach of latex agglutination testing, a convenient alternative to enzyme immunoassay for the detection of *Rotavirus* in childhood gastroenteritis by comparison of two enzyme immunoassay and two latex tests. *J Clin Microbiol* 1985;21:622-625.

694 Sandefur PD, Peterson JW. Isolation of skin permeability factors from culture filtrates of *Salmonella typhimurium*. *Infect Immun* 1976;14:671-679.

695 Sanderson IR. Acute gastroenteritis in infancy and childhood. *Curr Opinio Gastroenterol* 1986;2:89-91

696 Sandilands JE. The communication of diarrhoea from the sick to the healthy. *Proc R Soc Med* 1909-1910;3 (epidemioly section):95-121.

697 Sanekata T, Yoshida Y, Okada H. Detection of *Rotavirus* in faeces by latex agglutination. *J Immunol Methods* 1981;41:377-385.

698 Sansoneti PJ, Formal SB, Hale TL,Kopecko DJ. Bases genetiques de la penetration de *Shigella flexneri* dans les cellules epitheliales. *Ann Immunol* 1981;132D:183-189.

699 Sansonetti PJ, Hale TL, Dammin GJ, Kapfer C, Collins HH, Formal SB. Alterations in the pathogeneicity of *Escherichia coli* K-12 after transfer of plasmid and chromosomal genes from *Shigella flexneri*. *Infect Immun* 1983;39:1392-1402.

700 Santos JS. Nutritional implications and physiologic response to pediatric diarrhea. *Pediatr Infect Dis* 1986;5:S152-S154.

701 Santosham M, Yolken RH, Quiroz, et al.. Detection of *Rotavirus* in respiratory secrections of children with pneumonia. *J Pediatr* 1983;103:583-585.

702 Santosham M, Yolken RH, Wyatt RG, Bertrando R, Black RE, Spira WM, Sack RB. Epidemiology of *Rotavirus* diarrhea in a prospectively monotired American Indian population. *J Infect Dis* 1985;152:778-782.

703 Sanyal SC, Singh SJ, Sen PC. Enterophatogenecity of *Aeromonas hydrophila* and *Plesiomonas shigelloides*. *J Med Microbiol* 1975;8:185-198.

704 Sarkkinen HK, Halonen PE, Arstila PP. Comparison of four-layer radioimmunoassay and electron microscopy for detection of human *Rotavirus*. *J Med Virol* 1979;4:255-260.

705 Sarkkinen HK, Meurman OH, Halonen PE. Solid phase radioimmunoassay of IgA, IgG, and IgM antibodies to human *Rotavirus*. *J Med Virol* 1979;3:281-289.

706 Sato K, Inaba Y, Shinozaki T, Fuyii R, Matumoto M. Isolation of human *Rotavirus* in cell cultures: brief report. *Arch Virol* 1981;69:155-160.

707 Satterwhite TK, DuPont HL. The patient with aute diarrhea. An algorithm for diagnosis. *JAMA* 1976;236:2662-2664.

708 Saulsbury FT, Winkelstein JA, Yolken RH. Chronic *Rotavirus* infection in immunodeficiency. *J Pediatr* 1980;97:61-65.

709 Scaletsky ICA, Silva mLM, Trabulsi LR. Distinctive patterns of adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to HeLa cells. *Infect Immun* 1984;45:534-536.

710 Schnagal RD, Rodger SM, Holes IH. Variation in human *Rotavirus* electrophoretypes occuring between Rotavirus gastroenteritis epidemics in Central Austrália. *Infect Immun* 1981;33:17-21.

711 Schoub BJ, Greeff AS, Lecatsas G, Prozesky OW, Hay IT, Prinsloo JG, Ballard RC. A microbiological investigation of acute summer gastroenteritis in black South African infants. *J Hyg* 1977;78:377-385.

712 Schreiber DS, Blaklow NR, Trier JS. The mucosal lesion of the proximal small intestine in acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *N Engl J Med* 1973;288:1318-1323.

713 Scotland SM, Richmond JE, Rowe B. Adhesion of enteropathogenic strains of *Escherichia coli* (EPEC) to Hep-2 cells is not dependent on the presence of fimbriae. *FEMS Microbiol Lett* 1983;20:191-195.

714 Scrimshaw NS, Taylor CE, Gordon JE. Interactions of nutrition and infection. *WHO Monograph* (nº 57) 1968;64-65.

715 Scrimshaw NS. Synergism of malnutrition and infection. *JAMA* 1970;212:1685.

716 Sedlock DM, Koupal LR, Deibel RH. Production and partial purification of *Salmonella* enterotoxin. *Infect Immun* 1978;20:375-380.

717 Send D, Gauguly U, Saha MR, et al.. Studies on *Escherichia coli* as a cause of acute diarrhea in Calcutta. *J Med Microbiol* 1979;17:53-58.

718 Sentosham M, Daum RS, Dillman L, et al.. Oral rehydration therapy of infantile diarrhea. A controlled study of weel-nourished children hospitalized in the United States and Panama. *N Engl J Med* 1982;306:1070-1076.

719 Sereny B. Experimental keratoconjuntivitis shigellosa. *Acta Microbiol Acad Sci Hung* 1955;2:293

720 Sethi SK, Al-nakib W, Kruffash FA, Majeed HA. Acute diarrhoea and *Rotavirus* infection in young children in Kwait. *Ann Trop Paed* 1984;4:117-121.

721 Severin WPJ. Latex agglutination in diagnosis of meningococal meningitis. *J Clin Pathol* 1970;25:1079-1082.

722 Shaegani M, Morse D, DeForge I, Root T, Parsons LM, Maupin PS. Microbilogy of a major foodborne outbreak of gastroenteritis caused by *Yersinia enterocolitica* serogroup O:8. *J Clin Microbiol* 1983;17:35-40.

723 Sharp HL. The current status of alpha1-antitrypsin: A protease inhibitor in gastrointestinal disease. *Gastroenterology* 1976;70:611-621.

724 Shaw PK, Brodsky RE, Lyman DO, et al.. A community wide outbreak of giardiasis with evidence of transmission by a municipal water supply. *Ann Int Med* 1977;87:426-432.

725 Sheehy TW, Holley HPJr. Giardia-induced malabsorption in pancreatitis. *JAMA* 1975;233:1373-1375.

726 Shepherd RW, Truslow S, Walker-Smith JA, et al.. Infantile gastroenteritis: a clinical study of *Reovirus*-like agent infection. *Lancet* 1975;2:1082-1084.

727 Shimizu F, Hooks JJ, Kassel H, et al.. Virus-induced decreased of insulin receptors in cultured human cells. *J Clin Invest* 1980;66:1144-1151.

728 Shmilovitz M, Kretzer B, Rotman N. *Campylobacter jejuni* as an etiological agent of diarrheal disease in Israel. *Is J Med Sci* 1982;18:935-940.

729 Sierra Pérez E, Giner PC, Carrasco GS, Ferro O, De la Loma A, González VG. Gastroenterite aguda por *Rotavirus*. *An Esp Pediat* 1982;16:219-228.

730 Silva RM, Toledo MRF, Trabulsi LR. Biochemical and cultural characteristics of invasive *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 1980;11:441-444.

731 Silverman A, Roy CC, eds. In: *Pediatric Clinical Gastroenterology*. London: Mobsy Company, 1983, pg.207.

732 Simhon A, Chrystie IL, Totterdell BM, Banatvala JE, Rice SJ, Walker-Smith. Sequential *Rotavirus* diarrhoea caused by virus of same subgroup. *Lancet* 1981;2:1174.

733 Simhon A, Mata L. Anti-rotavirus antibody in human colostrum. *Lancet* 1978;1:39-40.

734 Singh N, Sereno M, Flores J, Kapikian AZ. Monoclonal antibodies to subgroup 1 *Rotavirus*. *Infect Immun* 1983;42:835-837.

735 Skirrow MB, Benjamin J. '1001' campylobacters: cultural characteristics of intestinal campylobacters from man and animals. *J Hyg* 1980;85:427-442.

736 Skirrow MB. *Campylobacter* enteritis - a new disease. *Br Med J* 1977;2:9-11.

737 Skurnik M, Nurmi T, Granfors K, Koskela M, Tilikainen AS. Plasmid associated antibody production against *Yersinia enterocolitica* in man. *Scand J Infect Dis* 1983;15:173-177.

738 Smellie JM. Infantile diarrhoea. *Lancet* 1939;1:969-973.

739 Smith HW, Cravioto A, Willshaw GA, McConnell MM, Scotland SM, Gross RJ, Rowe B. A plasmid coding for the production of colonization factor antigen I and heatstable enterotoxin in strains of *Echerichia coli* of serogroup O78 . *FEMS Microbiol Lett* 1979;6:255-260.

740 Smith HW, Halls J. Studies on *Escherichia coli* enterotoxin. *J Pathol Bacteriol* 1967;93:531-543.

741 Smith ML, Lazdins I, Holmes IH. Coding assignments of double-strande RNA segments of SA11 *Rotavirus* established by in vitro translation. *J Virol* 1980;33:976-987.

742 Smith T. *Spirella* associated with disease of the fetal membrane in cattle (infection abortion). *J Exp Med* 1918;28:701-719.

743 Smyth CJ, Kaijer B, Back E, et al.. Occurrence of adhesins causing mannose-resistant haemagglutination of bovine erytrocytes in enterotoxigenic *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Letts* 1979;5:85-90.

744 Snodgrass DR, Angus KW, Gray EW. *Rotavirus* infection in lambs: pathogenesis and pathology. *Arch Virol* 1977;55:263-274.

745 Snodgrass DR, Ferguson A, Allan F, Angus KW, Mitchell B. Small intestinal morphology and epithelial cell kinetics in lamb *Rotavirus* infection. *Gastroenterology* 1979;6:477-481.

746 Snodgrass DR, Madeley CR, Wells PW, Angus KW. Human *Rotavirus* in lambs: Infection and passive protection. *Infect Immun* 1977;16:268-270.

747 Snodgrass DR, Wells PW. Passive immunity in rotaviral infections. *J Am Vet Med Assoc* 1978;173:565-568.

748 Snodgrass DR, Wells PW. *Rotavirus* infection in lambs: Studies on passive protection. *Arch Virol* 1976;52:201-205.

749 Snyder JD, Merson MH. The magnitude of the global problem of acute diarrhoeal disease: a review of active surveillance data. *Bull WHO* 1982;60:605-613.

750 Soenarto Y, Sebodo T, Ridho R, Alrasjid H, Rohde JE, Bugg HC, Barnes GL, Bishop RF. Acute diarrhea and *Rotavirus* infection in newborn babies and children in Yogyakarta, Indonesia,from June 1978 to June 1979. *J Clin Microbiol* 1981;14:123-129.

751 Soenarto Y, Sebodo T, Suryantoro P, Krisnomurti L, Haksohusodo S. Bacterian, parasitic agents and rotaviruses associated with acute diarrhoea in hospital inpatients Indonesian children. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1983;77:724-730.

752 Sojo A, Elorz J, Eizaguirre J, Lafuente P, Rubio Mc, Gutierrez C, Vitoria JC. Gastroenterites por *Campylobacter jejuni* en la infancia. *An Esp Pediat* 1982;17:34-39.

753 Sonza S, Breschkin AM, Holmes IH. Derivation of neutralizing monoclonal antibodies against *Rotavirus*. *J Virol* 1983;45:1143-1146.

754 Sousa JC, Pinto MA, Nascimento MSJ, Santos FF, Aguiar A. Influência dos meios de cultura no isolamento de *Salmonella* e *Shigella* a partir de amostras fecais. *Rev Port D Inf* 1985;8:27-31.

755 Speirs JI, Stravic S, Konowalchuck J. Assay of *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin with Vero cells. *Infect Immun* 1977;16:617-622.

756 Spencer EG, Avendano LF, Araya M. Characteristics and analysis of electrophoretypes *Rotavirus* isolated in Chile. *J Infect Dis* 1983;148:41-48.

757 Spencer EG, Avendano LF, Garcia BI. Analysis of human *Rotavirus* mixed electrophoretypes. *Infect Immun* 1983;39:569-574.

758 Spizzamiglio GE. Diarreas y seguimiento bacteriologico en coproculturas. *Arch Argent Pediat* 1978:86:319-325.

759 Spki G,Jorieu S, Mazurier J, Navarro J, Romond C, Montreuil S. Caracterization and biological role of human lactotransferrin complexes. In: Williams AF Baum JD, eds.. *Human milk banking*. New York: Nestlé Nutrition, Vevey/Raven Press, 1984:133-143.

760 Sramkova L, Havlik J, Slarova J. *Campylobacter foetus subspecies jejuni*- another agent evoking diarrhoea in infants and children. *Cs Pediat* 1982;37:192-194.

761 Stals F, Walther FJ, Bruggeman CA. Fecal and pharyngeal shedding of *Rotavirus* and *Rotavirus* IgA in children with diarrhea. *J Med Virol* 1984;14:333-339.

762 Steel TW, McDermott S. *Campylobacter* enteritis in South Australia. *Med J Aust* 1978;2:404-406.

763 Steinhoff MC, Smith DH. Diarrheagenic and enteropathogenic *Escherichia coli*. *N Engl J Med* 1979;300:1281

764 Steinhoff MC. *Rotavirus*: the first five years. *J Pediatr* 1980;96:611-622.

765 Stern GM, Jones RB, Fraser ACL. Hyperosmolar dehydration in infancy due to faulty feeding. *Arch Dis Child* 1972;47:468-469.

766 Steveson RE, Bowyer FP. Hyperglycemia with hyperosmolal dehydration in nondiabetic infants. *J Pediatr* 1970;77:818-823.

767 Stintzing G, Back E, Tufvesson B, Johnsson T, Wadstrom T, Habte D. Seasonal fluctuactions in the occurrence of enterotoxigenic bacteria and *Rotavirus* in paediatric diarrhoea in Addis Ababa. *Bull WHO* 1981;59:67-63.

768 Stintzing G, Mollby R. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and other enteropathogens in paediatric diarrhoea in Addis Ababa. *Acta Paediatr Scand* 1982;71:279-286.

769 Stogmann W, Blumel P. Salmonellosen im Kindersalter-ein aktuells Problem. *Wien Klin Wochenchz* 1982;94:86-89.

770 Stool BJ, Glass RI, Banu H, Huq MI, Khan MU, Ahmed M. Value of stool examination in patients with diarrhoea. *Br Med J* 1983;286:2037-2040.

771 Sunoto D. Diarrhoeal problems in Shoutheast Asia. *South Asian J Trop Med Public Health* 1982;13:306-318.

772 Sutton DL, Kamath KR. Giardiasis with protein-losing enteropathy. *J Pediatr 1 Nutr* 1985;4:56-59.

773 Suzuki H, Amano Y, Kinebuchi H, Vera EG, Davila A, Lopez J, Gustabo R, Konno T, Ishida N. *Rotavirus* infection in children with acute gastroenteritis in Ecuador. *Am J Trop Med Hyg* 1981;30:293-294.

774 Svedhem A, Kaijer B. *Campylobacter fetus subspecies jejuni*: A common cause of diarrhea in Sweden. *J Infect Dis* 1980;142:353-359.

775 Svedhem A, Kaijer B. Isolation of *Campylobacter jejuni* from domestic animals and pets: probable origin human infection. *J Infection* 1981;3:37-40.

776 Svedhem A, Norkrans G. *Campylobacter jejuni* enteritis transmitted from cat to man. *Lancet* 1980;1:713-714.

777 Symonds J. *Campylobacter* enteritis in the community. *Br Med J* 1983;286:243-244.

778 Takeda Y, Okamoto K, Miwatani T. Toxin from the culture filtrate of *Shigella dysenteriae* that causes morphological changes in Chinese hamster ovary cells and is distinct from the neurotoxin. *Infect Immun* 1977;18:546

779 Takeuchi A, Binn LN, Jervis HR, et al.. Electron microscope study of experimental enteric infection in neonatal dogs with a canine *Coronavirus*. *Lab Invest* 1976;34:539-549.

780 Takeuchi A. Electron microscope observations on penetration of the gut epithelial barrier by *Salmonella typhimurium*. In: Schlessinger D, ed. *Microbilogy*. Washington: Am Soc Microbiol, 1975:174-181.

781 allett S, MacKenzie C, Middleton P, Kerzner B, Hamilton R. Clinical, laboratory, and epidemiological features of a viral gastroenteritis in infants and chidren. *Pediatrics* 1977;60:217-222.

782 Talwar P, Sharman M, Sehgal SC. Prevalence and significance of yeast in infantile infections. *Indian J Med Res* 1982;75:50-57.

783 Tan GS, Townley RRW, Davidson GP, Bishop FR, Holmes IH, Ruck BJ. Virus in faecal extracts from children with gastroenteritis. *Lancet* 1974;1:1109.

784 Tandon BN, Tandon RK, Satpathy BK, Shriniwas. Mechanism of malbsorption in giardiasis: a study of bacterial flora and bile salt deconjugation in upper jejunun. *Gut* 1977;18:176-181.

785 Tanner EI, Bullin CH. *Campylobacter* enteritis. *Br Med J* 1977;2:579

786 Tao H, Guangmu C, Chanfan W. Waterborne outbreak of *Rotavirus* diarrhea in adults in China caused by a novel *Rotavirus*. *Lancet* 1984;1:1139-1142.

787 Taraska SP. Etiology of paediatric gastroenteritis in Rochester (Minnesota). *Mayo Clin Proc* 1979;54:151-156.

788 Tarlow MJ. Acute infantile gastroenteritis. *Medical Education* 1981;51-56.

789 Taylor CE, Taylor E. Multifactorial causation of malnutrition. In: McLaren DS, ed. *Nutrition in the Community*. London: John Wiley & Sons, 1976.

790 Taylor J. Host specificity and enteropathogenecity of *Escherichia coli*. *J Appl Bacteriol* 1961;3:316-325.

791 Taylor WL, Schelhart D. Isloation of *Shigella*. VIII. Comparison of xylose lysin deoxycholate agar, hektoen blue agar with stool specimen. *Appl Microbiol* 1971;21:32-37.

792 Taylor WL, Schelhart D. Isolation of *Shigella*.IV. Comparison of plating media with stools. *Am J Clin Pathol* 1967;48:356-362.

793 Teixeira Santos N, Guerra A, Lobo JC, Pinho JA, Morais MR, Silva DV, Guimarães ML. Avaliação nutricional da população infantil dos 0 aos 5 anos de uma comunidade piscatória-Espinho III. *Jornal do Médico* 1986;2165:427-444.

794 Teixeira Santos N, Lobo JC, Pinho JA, Guerra A, Neves PL, Morais MR. Avaliação nutricional da população infantil (0-5 anos) de uma comunidade piscatória-Espinho. *Rev Port Pediatr* 1981;12 (supl 1):1-51.

795 Teree TM,Mirabal-Fonte E, Ortiz A, Wallace WM. Stool losses and acidosis in diarrheal disease of infancy. *Pediatrics* 1965;36:704-713.

796 Thelen P. Burke V, Gracey M. Effects of intestinal micro-organisms om fluid and elecrolyte transport in the jejun of the rat. *J Med Microbiol* 1978;11:463-470.

797 Thomas DW, Sinatra FR, Merrit RJ. Fecal alpha1-antitrypsin in young people with Crohn's disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1983;2:491-496.

798 Thomas DW, Sinatra FR, Merrit RJ. Random fecal alfa-1-antitrypsin concentration in children with gastrointestinal disease. *Gastroenterology* 1981;80:776-782.

799 Thomas LV, Cravioto A, Scotland SM, Rowe B. New fimbrial antigenic type (E8775) that may represent a colonization factor in enterotoxigenic *Escherichia coli* in humans. *Infect Immmun* 1982;35:1119-1124.

800 Thomas MEM, Luton P, Matimer JY. Virus diarrhoea associated with pale fatty faeces. *J Hyg* 1981;87:313-319.

801 Thompson RG, Karandikan DS, Leek J. Giardiasis: an unusual cause of epidemic diarrhea. *Lancet* 1974;1:615-616.

802 Thoren A, Wolde-Miriam Y, Stinzing G, Wadstrom T, Habte D. Antibiotics in the treatment of gastroenteritis caused gy enteropathogenic *Escherichia coli*. *J Infect Ped Dis* 1980;141:27-31.

803 Thorén A. The role of enteropathogenic *E. coli* in infantile diarrhoea: aspects on bacteriology, epidemiology and therapy. *Scand J Infect Dis* 1983: suppl 37.

804 Thorne GM, Gorbach SL. Enterotoxigenic *E.coli* detection and importance in diarrheal disease of children. *J Am Vet Med Ass* 1978;173:592.

805 Thouless ME, Beards GM, Flewtt TH. Serotyping and subgrouping of *Rotavirus* strains by ELISA test. *Arch Virol* 1982;73:219-230.

806 Thouless ME, Bryden AS, Flewett TH, Wood GN, Bridger JC, Snodgrass GR, Herring JA. Serological relationships between rotaviruses from different species as studied by complement fixation and neutralization. *Arch Virol* 1977;53:287-294.

807 Thouless ME, Bryden AS, Flewtt TH. Serotypes of human *Rotavirus*. *Lancet* 1978;1:39.

808 Thouless ME. *Rotavirus* polypeptides. *J Gen Virol* 1979;44:187-197.

809 Toledo MRF, Alvariza CB, Murahovschi J, Ramos TS, Trabulsi LR. Enteropathogenic *Escherichia coli* serotypes and endemic diarrhea in infants. *Infect Immun* 1983;39:586-589.

810 Tomkins A. Nutritional status and severity of diarrheal disease among preschool children in rural Nigeria. *Lancet* 1981;1:860-862.

811 Topley WC, Wilson GS. In: *The principles of bacteriology and immunity*. 1st ed. London: Arnold, 1929:1027-1036.

812 Topley WC, Wilson GS. In: *The principles of bacteriology and immunity*. 2nd ed. London: Arnold, 1936:1245-1254.

813 Totterdell BM, Chrystie IL, Banatvala JE. Cord blood and breast-milk antibodies in neonatal *Rotavirus* infection. *Br Med J* 1980;280:828-830.

814 Totterdell BM, Chrystie IL, Banatvala JE. *Rotavirus* infection in a maternity unit. *Arch Dis Child* 1976;51:924-928.

815 Totterdell BM, MacLeod J, Chrystie IL, Banatvala JE. Enhancement of human *Rotavirus* infectivity in a monkey kidney cell line by human expressed breast milk. *J Med Virol* 1982;9:307-310.

816 Trabulsi LR, Toledo MRF, Murahovschi J, Neto UF, Candeias JAN. Epidemiology of infantile diarrhea disease in Brasil. In: Takeda Y, Miwatani T, ed. *Bacterial Diarrhea diseases*. Tokyo: KTK Scientific Publishes, 1985:25-36.

817 Tripp JH, Wilmers MJ, Wharton BA. Gastroenteritis: a continuing problem of child health at Britain. *Lancet* 1977;2:233-236.

818 Trowbridge F, Newton LH. Seasonal changes in malnutrtion and diarrheal diseases among preschool children in El Salvador. *Am J Trop Med Hyg* 1979;28:135-141.

819 Tuck R, Gracey M, Malajczuk A, Sunoto. Defective *Candida* killing in chilhood malnutrition. *Arch Dis Chil* 1979;54:445-447.

820 Tufvesson B, Johnsson T, Persson B. Family infections by reo-like virus: comparison of antibody titres by complement fixation and immunoelectroosmopheresis. *Scand J Infect Dis* 1977;9:257-261.

821 Tufvesson B, Johnsson T. Occurrence of reo-like viruses in young children with acute gastroenteritis. *Acta Pathol Microbiol* Scand[B] 1976;84:221-28.

822 Tufvesson B. Detection of a human *Rotavirus* strain different from types 1 and 2- a new subgroup? Epidemiology of subgroups in a Swedish and an Ethiopian community. *J Med Virol* 1983;12:111-117.

823 Turner JA. Giardiasis and infection with Dientamoeba fragilis. *Ped Clin N Am* 1985;32:865-880.

824 Tyrrell DAJ, Kapikian AZ. Infectious diseases and microbial agents. In: Tyrrel DA, Kapikian AZ, eds.. *Virus infection of the gastrointestinal tract*. New York: Marcell Decker, 1982:211-225.

825 Tyrrell DAJ. Some aspects of the classification and basic bilogy of viruses of the gastrointestinal tract. In: Tyrrell Daj, Kapikian AZ eds. *Virus infections of the gastrointestinal tract*. New York; Marcel Dekker, 1982;1-12.

826 Uhnoo I, Wadell G, Svensson L, Johansson M. Two new serotypes of enteric *Adenovirus* causing infantil diarrhoea. *Dev Biol Stand* 1983;53:311-318.

827 Ulshen MH, Rollo JL. Pathogenis of *Escherichia coli* gastroenteritis in man-another mecanism. *N Engl J Med* 1980;302:99-101.

828 Une T, Zen-yoji H, Maruyama T, Uanagawa Y. Correlation between epithelial cell infectivity in vitro and O-antigen groups of *Yersinia enterocolitica*. *Microbiol Immunol* 1977;21:727-729.

829 Une T. Studies on the patogenicity of *Yersinia enterocolitica* II. Interaction with cultered cells in vitro. *Microbiol Immunol* 1977;21:365-377.

830 Van Lier JA, Haver Korn MJ, Walkens JJ. *Campylobacter* enteritis bij kinderen 90-15jr) in de regio Endhoven-en epidemiologisch orderzolk. *Tijd Kindergenessekd* 1982;50:40-45.

831 Van Trappen G, Agg HO, Ponette E, Geboes K, Bertrand PH. *Yersinia* enteritis and enterocolitis: gastroenterological aspects. *Gastroenterology* 1977;72:220-227.

832 Varghese A, Ramachandran VG, Agarwald DS. Isolation and characterization of *Yersinia enterocolitica* from patients of gastroenteritis. *Indian J Med Res* 1984;79:35-40.

833 Vega-Franco, Carbajal A, Velasco F, et al.. El vómito como indicador clinico de la diarrea por *Rotavirus*. *Bol Med Hosp Inf Mex* 1985;42:169-174.

834 Velasco AC, Mateos ML, Mas G, Pedraza A, Diez M, Gutierrez A. Three years prospective study of intestinal pathogens in Madrid, Spain. *J Clin Microbiol* 1984;20:290-292.

835 Vesikari T, Isoulari E, Delem A, D'Hont E, Andre FE, Zissis G. Immunogenicity safety of live oral attenuated bovine *Rotavirus* vaccine strain RIT 4237 in adults and young children. *Lancet* 1983;2:807-810.

836 Vesikari T, Maki M,Sarkkinen HK, Arstila PP, Halonen PE. *Rotavirus*, *Adenovirus*, and non-viral enteropathogens in diarrhoea. *Arch Dis Child* 1981;56:264-270.

837 Vesikari T, Nurmi T, Maki M, Skurnik M, Sundqvist C, Granfors K, Gronroos P. Plasmids in *Yersinia enterocolitica* serotypes O:3 and O:9: Correlation with epithelial cell adherence in vitro. *Infect Immun* 1981;33:870-876.

838 Vesikari T, Sarkkinen HK, Maki M. Quantitative aspects of *Rotavirus* excreption in childhood diarrhoea. *Acta Paediatr Scand* 1981;70:717-721.

839 Viera de Torres B, Mazzali de Ilja R, Esparza J. Epidemilogical aspects of *Rotavirus* infection in hospitalized Venuezelan children with gastroenteritis. *Am J Trop Med Hyg* 1978;27:567-572.

840 Visvesvara GS. Giardiasis in children. *J Pediatr Gastroenterol Nut* 1982;1:463-465.

841 Vollet J. *Norwalk virus* and *Rotavirus* in travellers' diarrhoea in Mexico. *Lancet* 1982;1:109-110.

842 Von Bonsdorff CH, Hovi T, Makela P, Morttinen A. *Rotavirus* infection in adults in association with acute gastroenteritis. *J Med Virol* 1978;2:21-28.

843 Wadström T, Aust-Kettis A, Habte D, Holmgren J, Meeuwisse G, Mollby R, Soderlind O. Enterotoxin-producing bacteria and parasites in stools of Ethiopian children with diarrhoeal disease. *Arch Dis Child* 1976;51:865-870.

844 Wadström T, Faris A, Freer J, Habte D. Hydrophobic surface properties of ETEC with differen colonization factord (CFA 1, 2, K88 and K99) and attachment to intestinal epithelial cells. *Scand J Infect Dis* 1980;24 (Supll):148-153.

845 Waldeman RH, Ganguly R. Immunity to infection on secretory surfaces. *J Infect Dis* 1974;130:419-440.

846 Walder M. Epidemilogy of *Campylobacter* enteritis. *Scand J Infect Dis* 1982;14:27-33.

847 Walker-Smith JA, ed. *Pratical Paediatric Gastroenterology*. London: Churchill Livingstone, 1983

848 Walker-Smith JA. Acute gastrointestinal infections (chiefly of the small intestine). In: Manuel PD, Walker-Smith JA, Tomkins, eds.. *Infections of the gastrointestinal tract*. London: Churchill Livingstone, 1986:87-97

849 Walker-Smith JA. *Rotavirus* gastroenteritis. *Arch Dis Child* 1978;53:355-362.

850 Wall RA, Mellars BJ, Lutton P, Boulding S. Comparison of ELISA, SPACE and electron microscopy for the routine diagnosis of *Rotavirus* infection. *J Clin Pathol* 1982;35:104-106.

851 Walsh JA, Warren KS. Selective primary health care: an interim strategy for disease control in developing countries. *N Engl J Med* 1979;301:967-974.

852 Walther FJ, Bruggeman C, Daniels-Bosman MSM, Pourier S, Grauls G, Stals F, Bogaard AVD. Symptomatic and asymptomatic *Rotavirus* infections in hospitalized children. *Acta Paediatr Scand* 1983;72:659-663.

853 Waterlow JC. Classification and definition of protein-caloric malnutrition. *Br Med J* 1972;3:566-569.

854 Watknison M. Delayed onset of weanling diarrhea associated with high breast milk intake. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1981;75:432-435.

855 Weikel CS, Johnston LI, De Sousa MA, et al.. Cryptosporidiosis in northeastern Brazil: Association with sporadic diarrhea. *J Infect Dis* 1985;151:963-965.

856 Weinberg RJ, Tipton G, Klish WJ, Brown MR. Effects of breast feeding on morbidity in *Rotavirus* gastroenteritis. *Pediatrics* 1984;74:250-253.

857 Weisdorf SA, Salati LM, Longsdorf JA, Ramsay NK, Sharp HL. Graft-vs-host disease of the intestine: A protein losing enteropathy caracterized by fecal alpha1-antitrypsin. *Gastroenterology* 1983;85:1076-1081.

858 Wenman WM, Hinde D, Feltham S, Gurwith M. *Rotavirus* infection in adults: results of a prospective family study. *N Engl J Med* 1979;301:303-306.

859 Whaed ME, Rahaman MM, Gilman RH. Protein-losing enteropathy in diarrhoea: application of alfa-1 antitripsina assay. ICDDR,B, Working paper nº22, Dacca, 1981.

860 Whicher JT. Functions of acute phase proteins in the inflamatory response. In: Walter G, ed.. *Marker Protein in Inflamation*. Vol2. Berlin, 1984:89-97.

861 White L, Perez I, Perez M, Urbina G, Greenberg H, Kapikian A, Flores J. Relative frequency of *Rotavirus* subgroups 1 and 2 in Venezuelan children with gastroenteritis assayed with monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol* 1984;19:516-520.

862 Whittaker JW, Cuthbert C, Hammond VA, Alberti KM. The effect of metabolic acidosis in vivo on insulin binding to isolated rat adypocytes. *Metabolism* 1978;31:553-557.

863 WHO Scientific Group Immunodeficiency. *Tecnical Report Series*, nº 630, 1978

864 WHO Scientific Working Group. *Rotavirus* and other viral diarrhoeas. *Bull WHO* 1980;58:183-198.

865 WHO Scientific Working Group. Enteric infections due to *Campylobacter*, *Yersinia*, *Salmonella*, and *Shigella*. *Bull WHO* 1980;58:519-537.

866 WHO Scientific Working Group. *Escherichia coli* diarrhoea. *Bull WHO* 1980;58:23-36.

867 Wigaud R, Baumeister HG, Maars G, Kuhn J, Hamnres HJ. Isolation and identification of enteroadenovirus. *J Med Virol* 1983;11:233-240.

868 Wlaker-Smith JA. Cow's milk intolerance as a cause of post enterite diarrhoea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1982;1:163-173.

869 Wolf JL, Schreiber DS. Viral gastroenteritis. *Med Clin N Am* 1982;66:575-595.

870 Wolfe MS. Current concepts in parasithology. *N Engl J Med* 1978;298:319

871 Wolfe MS. Giardiasis. *N Engl J Med* 1978;298:319-321.

872 Wolfe MS. The treatment of intestinal protozoan infections. *Med Clin N Am* 1982;66:707-720.

873 Wong JC, Price Z, Bruckner DA. Aseptic meningitis in an infant with *Rotavirus* gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis* 1984;3:244-246.

874 Wood GN, Bridger JC, Jones JM, Flewtt TH, Bryden AS, Davies HA, White GBB. Morphological and antigenic relationships between viruses (rotaviruses) from acute gastroenteritis of children, calves, piglets, mice and foals. *Infect Immun* 1976;14:804-810.

875 Wood GN, Jones J, Bridger J. Levels of clostral antibodies against neonatal calf diarrhoeal virus. *Vet Rec* 1975;97:148-149.

876 Wood GN. Pathogenic rotaviruses isolated from pigs and calves. In: Elliot K, Knight J, eds.*Acute Diarrhea of Childhood.* Ciba Foundation Symposium. Amsterdam: Elsevier Press 1976:251-260.

878 Wyatt RG, Greenberg HB, James WD, Pittman AL, Kalicaa AR, Flores J, Chanock RM. Definition of human *Rotavirus* serotypes by plaque reduction assay. *Infect Immun* 1982;37:110-115.

879 Wyatt RG, James HD, Pittman AL, Hoshino Y, Greenberg HB, Kalika HR, Flores J, Kapikian AZ. Direct isolation in cell culture of human *Rotavirus* and their caracterization into four serotypes. *J Clin Microbiol* 1983;18:310-317.

880 Wyatt RG, Yolken RH, Urrutia JJ, Mata L, Greenberg HB, Chanock RM, Kapikian AZ. Diarrhea associated with *Rotavirus* in rural Guatemala: a longitudinal study of 24 infants and young children. *Am J Trop Med Hyg* 1979;28:325-328.

881 Yap KL, Sabil D, Muthu PA. Human *Rotavirus* infection in Malaysia. II. A study on the influence of living standart on the prevalence of *Rotavirus*-associated gastroenteritis in children hospitalized with diarrhea. *J Trop Pediatr* 1984;30:269-271.

882 Yap KL, Sabil D, Muthu PA. Human *Rotavirus* infection in Malaysia. I. A hospital-based study of *Rotavirus* in children with acute gastroenteritis. *J Trop Pediatr* 1984;30:131-135

883 Yap PL, Pryde AJ, Latham PJ, McCelland DBL. Serum IgA in the neonate. *Acta Paediatr Scand* 1979;68:695

884 Yolken RH, Kim HW, Clem T, Wyatt RG, Kalica AR, Chanock PM, Kapikian AZ. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of human *Rotavirus*-like agent of infantile gastroenteritis. *Lancet* 1977;2:263-267.

885 Yolken RH, Lawrence F, Leister F, Takiff HE, Strauss SE. Gastroenteritis associated with enteric type *Adenovirus* in hospitalized infants. *J Pediatr* 1982;101:21-26.

886 Yolken RH, Leister FJ. Evaluation of enzyme immunoassay for the detection of human *Rotavirus. J Infect Dis* 1981;144:379.

887 Yolken RH, Miotti P, Viscidi R. Immunoassays for the diagnosis and study of viral gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis* 1986;5:S46-S52.

888 Yolken RH, Wyatt RG, Mata L, Urrutia JJ, Garcia B, Chanock RM, Kapikian AZ. Secretory antibody directed against *Rotavirus* in human milk - measurements by means of enzyme-linked immunosorbent assay. *J Pediatr* 1978;93:916-921.

889 Yolken RH, Wyatt RG, Zissis G, Brandt CD, Rodriguez WJ, Kim HW, Parrott RH, Urrutia JJ, Mata L, Greenberg HB, Kapikian AZ, Chanock RM. Epidemiology of human *Rotavirus* types 1 and 2 studied by enzyme-linked immunosorbent assay. *N Engl J Med* 1978;299:1156-1161.

890 Yolken RH. Enzyme immunoassay for human Rotavirus. In: Tyrrel DA, Kapikian AZ, eds.. *Virus infection of the gastrointestinal tract.* New York: Marcell Decker, 1982;51-74.

891 Yow MD, Melnick JL, Blattner RJ, Stephenson WB, Robinson NM, Burkhardt MA. The association of viruses and bacteria with infantile diarrhea. *Am J Epidemiol* 1970;92:33-39.

892 Zadnikova RL, Hogenova HT. Role of breast-feeding for the nutrition and immunological development of the infant. In: Bellanti JA,ed.. *Acute Diarrhea: Its Nutritional Consequences in Children.* New York: Nestlé, Vevey/Raven Press, 1983:165-178.

893 Zamari K, Islam MR, Baqui AH. Nutritional status and electrolyte anomalies in children with diarrhoea in rural Bangladesh. *Nutr Rep Int* 1984;30:865-871.

894 Zink DL, Feeley JC, Wells JG, Vanderzant C, Vickery JC, Roof WD, O'Donovan GA. Plasmid-mediated tissue invasiveness in *Yersinia enterocolitica. Nature* 1980;283:224-226.

895 Zissis G, Lambert JP, Fonteyne J, Dekegel D. Child-mother transmission of *Rotavirus*? *Lancet* 1976;1:96.

896 Zissis G, Lambert JP, Kegel DD. Routine diagnosis of human rotaviruses in stools. *J Clin Pathol* 1978;31:175-178.

897 Zissis G, Lambert JP. Different serotypes of human *Rotavirus*. *Lancet* 1978;1:38-39.

Serviço executado na
Tipografia Nunes, Lda.
4000 PORTO