

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS NUTRIÇÃO E
SAÚDE

M^a EFIGÊNIA DE QUEIROZ LEITE

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA
COM N-ACETILCISTEÍNA (NAC) EM CRIANÇAS COM DIARRÉIA
PERSISTENTE.

Salvador

2009

M^a EFIGÊNIA DE QUEIROZ LEITE

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM
N-ACETILCISTEÍNA (NAC) EM CRIANÇAS COM DIARRÉIA PERSISTENTE.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado, sob a forma de dissertação, ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos Nutrição e Saúde, Escola de Nutrição, Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Nutrição.

Área de Concentração: Epidemiologia dos Distúrbios
Nutricionais

Orientadora: Profa. Dra. Ângela Peixoto de Mattos

Salvador

2009

TERMO DE APROVAÇÃO

M^a EFIGÊNIA DE QUEIROZ LEITE

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM
N-ACETILCISTEÍNA (NAC) EM CRIANÇAS COM DIARRÉIA PERSISTENTE.**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Nutrição, Programa de Pós-Graduação em Alimentos Nutrição e Saúde, Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia pela seguinte banca examinadora:

Banca examinadora

Ângela Peixoto de Mattos – Orientadora _____
Dra. em Medicina pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)
Escola de Nutrição/ Universidade Federal da Bahia - UFBA

Hugo da Costa Ribeiro Júnior _____
Dr. em Medicina Interna pela Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Escola de Nutrição/ Universidade Federal da Bahia - UFBA

Carlos Maurício Cardeal Mendes _____
Dr. em Saúde Coletiva pela Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Faculdade de Medicina da Bahia/ Universidade Federal da Bahia - UFBA

Salvador, 31 de março de 2009.

“Ninguém ignora tudo, ninguém sabe tudo. Por isso aprenderemos sempre.”

Paulo Freire

DEDICATÓRIA

A minha mãe, M^a do Socorro, exemplo de toda a minha vida, por toda amorosa abdicção e esforço para que eu pudesse me tornar o que sou.

Ao meu Pai que nunca se desviou do objetivo de nos fazer crescer através da educação, sem poupar esforços para manter-se firme nesta proposta.

Aos meus irmãos, por compartilharem comigo a doce alegria de nossa origem e convívio, aprendendo juntos a valorizar cada conquista em nossa caminhada.

A Fabiano por toda a compreensão, apoio e respeito por minhas escolhas, por não deixar ruir o melhor entre nós.

AGRADECIMENTOS

São tantos e tão especiais...

A Deus, pela luz que sempre iluminou o caminho mesmo quando os ventos ameaçavam apagar a chama;

Ao querido mestre Dr. Hugo Ribeiro, meu eterno e sincero agradecimento por ter acreditado e tornado possível o surgimento e amadurecimento da profissional que hoje sou;

À Dra. Ângela Peixoto de Mattos, pela oportunidade da partilha de seus valiosos conhecimentos e pela convivência diária que me possibilita compreender e valorizar o diferencial que faz a associação entre sensibilidade e profissionalismo;

À amiga e colega nutricionista Sandra Valois pela sua preciosa ajuda nos momentos de maior trabalho crítico e pelas palavras de equilíbrio diante do nervosismo;

Às queridas colegas nutricionistas, Ana Paula, Carla, Danile, Luciane e Mariana pelo apoio incondicional e pela paixão em comum pela Nutrição em Pediatria;

Aos colegas médicos, Tereza, Patrícia, Indira, Carol e Ney pela ajuda na condução dos trabalhos e pelas presenças marcantes em cada dia, me propiciando o aprendizado da convivência em equipe;

Às colegas enfermeiras: Patrícia, Luiza, Cíntia, Thamy, Naiara, Francine e Eliana por todo o empenho em todas as fases do estudo;

À toda a equipe de auxiliares de enfermagem na Unidade Metabólica, pelo rigor e cuidado no registro das informações dos balanços e atenção as crianças deste estudo;

À todas as estudantes de nutrição, que participaram de parte deste estudo, muitas hoje colegas de profissão, pela valiosa contribuição para o andamento deste trabalho;

Às queridas amigas, Déia, Duda, Cele, Tati, Bela, Martinha, Carol e Tatia, um grupo de meninas que hoje mulheres, provaram que na vida não existe tempo ruim para quem sabe aonde quer chegar;

Às minhas queridas colegas de curso: Claudinha, Beth, Priscila, Jaqueline, Carine, Déia, Poli, Val, Amanda e Albanita, que tornaram mais leves os momentos de maior dificuldade e que por algum tempo foram minha família. Obrigada meninas;

Às professoras do Curso de Pós-Graduação da ENUFBA, que muito colaboraram para o aperfeiçoamento desta obra e para o meu crescimento científico e profissional;

Aos queridos amigos do SRTN – APAE – Salvador: Helena, Tati, Bela, Ró, Inês, Antônio, Iara, Neyloca, Rê, e tantos outros que com suas palavras ou apenas um sorriso me ajudaram a não esmorecer pelo caminho, quando tudo parecia impossível;

A todas as criança, especialmente às que tornaram possível este trabalho, que são a minha grande motivação na constante busca pelo conhecimento a fim de tornar cada vez melhor a assistência e o cuidado a sua saúde;

A todos que direta ou indiretamente contribuíram e torceram por meu sucesso e realização de mais este sonho.

LEITE, M^a Efigênia de Queiroz. Avaliação do efeito da suplementação dietética com N-acetilcisteína (NAC) em crianças com diarréia persistente. 112 f.il.2009. Dissertação (Mestrado) – Escola de Nutrição, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2009.

RESUMO

Objetivo: avaliar o efeito da suplementação dietética com o antioxidante N-acetilcisteína (NAC), oferecido a crianças com diarreia persistente. **Método:** trata-se de um ensaio clínico, duplo-cego, randomizado, controlado com placebo no qual foram estudadas 55 crianças, de ambos os sexos, com idades entre 02 e 36 meses, atendidas em um hospital pediátrico com diagnóstico de diarreia persistente (≥ 14 dias de duração). Os pacientes foram distribuídos, randomicamente, em dois grupos que receberam como dieta padrão o iogurte natural integral e a suplementação dietética com 3g de N-ACC(28 crianças) ou placebo(27 crianças) duas vezes ao dia. Estas crianças foram mantidas em uma unidade metabólica, onde o peso, a ingestão dietética de soro de reidratação oral e água, assim como as perdas fecais, urinárias e por vômitos, foram mensuradas durante todo o estudo e analisadas a cada 24 horas. Foram realizadas avaliações antropométricas e bioquímicas no momento do internamento e da alta do estudo. **Resultados:** Ao final do período de observação, os dados mostraram que a mediana de duração da diarreia (h) e de perda fecal (ml/kg/dia) foram menores em favor do grupo teste, embora sem significância estatística. **Conclusão:** Este estudo demonstra que a utilização de NAC como suplemento na dieta de crianças com diarreia persistente pode proporcionar vantagem terapêutica em comparação com a alimentação convencional.

Palavras chaves: Diarreia persistente, Suplementação dietética, crianças, antioxidante-N-acetilcisteína.

LEITE, M^a Efigênia de Queiroz. Evaluation of the effect of dietary supplementation with N-acetylcysteine (NAC) in children with persistent diarrhea. 112 f.il.2009. Master Dissertation – School of Nutrition, Federal University of Bahia, Salvador, 2009.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the effect of dietary supplementation with the antioxidant N-acetylcysteína (NAC), offered to children with persistent diarrhea. **Methods:** This is a clinical trial, double-blind, randomized, placebo-controlled study in which 55 children were of both sexes, aged between 02 and 36 months, attended in a pediatric hospital with a diagnosis of persistent diarrhea (≥ 14 days duration). The patients were divided, randomly, into two groups that received standard diet as the natural whole yogurt and dietary supplementation with N-3 of ACC (28 children) or placebo (27 children) twice daily. These children were kept in a metabolic unit, where the weight, dietary intake, serum of oral rehydration and water, and fecal loss, urinary and vomiting were measured throughout the study and examined every 24 hours. We performed anthropometric and biochemical evaluations at the hospital and discharged from the study. **Results:** At the end of the observation period, data showed that the median duration of diarrhea (h) and fecal loss (ml/kg/day) were lower for the test group, although without statistical significance. **Conclusion:** This study demonstrates that the use of N-ACC as a supplement in the diet of children with persistent diarrhea may provide therapeutic advantage compared to conventional food.

KEYWORDS: Persistent diarrhea, dietetic supplementation , children, antioxidant- N-acetylcysteína.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Fisiopatogenia da diarreia persistente | 24 |
| Figura 2. Algumas espécies reativas de oxigênio, juntamente com sua meia vida em segundos..... | 27 |

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

- TABELA 1.** Características admissionais dos pacientes de acordo com grupo de tratamento, CPPHO – UFBA, 2004-2007. 57
- TABELA 2.** Dados da anamnese admissional dos pacientes estudados, segundo grupo de tratamento, CPPHO – UFBA, 2004-2007..... 57
- TABELA 3.** Dados laboratoriais admissionais das crianças estudadas por grupo de tratamento, CPPHO – UFBA, 2004-2007..... 58
- TABELA 4.** Práticas alimentares domiciliares adotadas, segundo o grupo de tratamento, CPPHO-UFBA, 2004-2007..... 58
- TABELA 5.** Ingestão de fórmula, leite materno, SRO e água, segundo o grupo de tratamento, CPPHO-UFBA, 2004-2007..... 59
- TABELA 6.** Curso clínico da doença, segundo o grupo de tratamento, CPPHO-UFBA, 2004-2007..... 59
- GRÁFICOS 1.** Estado nutricional dos pacientes, na admissão e na alta do estudo, segundo a média do z-score de Peso para Altura (P/A) por grupo de tratamento..... 60

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| FIGURA 1. Análise de sobrevivência – Kaplan-Meyer, da duração da diarreia por grupo de tratamento..... | 61 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

| | |
|--------|----------------------------------------|
| ATP | Adenina Trifosfato |
| CAT | Catalase |
| DNA | Ácido Desoxirribonucléico |
| DP | Diarréia Persistente |
| ERN | Espécie Reativa de Nitrogênio |
| ERO | Espécie Reativa de Oxigênio |
| GCS | γ - Glutamil Cisteína Sintetase |
| GSH | Glutationa |
| NAC | N- acetilcisteína |
| ON | Óxido Nítrico |
| SOD | Superóxido Dismutase |
| Vit. A | Vitamina A |
| Vit. C | Vitamina C |
| Vit. E | Vitamina E |
| AIDS | Síndrome da Imunodeficiência Adquirida |

SUMÁRIO

| | | |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1. | INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2. | REVISÃO DA LITERATURA..... | 5 |
| | 2.0 DIARRÉIA PERSISTENTE: epidemiologia..... | 5 |
| | 2.1 DIARRÉIA PERSISTENTE: etiopatogenia..... | 6 |
| | 2.2 DIARRÉIA PERSISTENTE: comprometimento do estado nutricional | 9 |
| | 2.3 STRESS OXIDATIVO..... | 11 |
| | 2.3.1 Stress oxidativo e mucosa intestinal..... | 13 |
| | 2.3.2 Sistema de defesa antioxidante | 14 |
| | 2.3.3 N-acetilcisteína (NAC)..... | 16 |
| 3. | OBJETIVOS | 19 |
| | 3.1 Objetivo geral | 19 |
| | 3.2 Objetivos específicos | 19 |
| 4. | HIPÓTESE DO ESTUDO | 20 |
| 5. | METODOLOGIA | 21 |
| | 5.1 Desenho de estudo | 21 |
| | 5.1.1 Descrição das condições..... | 21 |
| | 5.1.2 Dimensionamento da amostra | 21 |
| | 5.1.3 Critérios de inclusão | 22 |
| | 5.1.4 Critérios de exclusão | 23 |
| | 5.1.5 Variáveis do estudo | 23 |
| | 5.1.6 Operacionalização das variáveis | 24 |
| | 5.2 Alocação para o grupo de tratamento | 25 |
| | 5.2.1 Técnica de aleatorização | 25 |
| | 5.2.2 Início do estudo | 25 |
| | 5.3 Recrutamento dos pacientes | 26 |

| | | |
|----------|--------------------------------------------------|-----------|
| 5.3.1 | Aprovação ética | 26 |
| 5.3.2 | Termo de Consentimento Livre e Esclarecido | 26 |
| 5.3.3 | Admissão dos pacientes | 26 |
| 5.3.4 | Avaliação laboratorial | 28 |
| 5.3.5 | Manejo dos casos | 29 |
| 5.4 | Controle de qualidade | 34 |
| 5.5 | Experiências adversas | 34 |
| 5.6 | Definições | 35 |
| 5.7 | Análise dos resultados | 37 |
| 6 | RESULTADOS | 38 |
| 7 | DISCUSSÃO | 47 |
| 8 | CONCLUSÃO | 53 |
| | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 54 |
| | LISTA DE ANEXOS | 65 |

1. INTRODUÇÃO

Apesar de todos os avanços no conhecimento sobre a epidemiologia, transmissão e patogenia da diarreia infecciosa em crianças, essa doença ainda se apresenta como uma das principais causas de mortalidade na faixa etária pediátrica, principalmente entre os menores de 01 ano de vida (MBORI-NGACHA et al., 1995; ANDRADE et al., 1998; WHO, 2003).

Têm-se observado declínios da mortalidade, através de análises da tendência secular da diarreia em países em desenvolvimento, mas não da incidência da doença (BERN et al., 1992). Embora seja considerado um problema de saúde inerente aos países em desenvolvimento, sua distribuição assume um caráter universal. Nos estados Unidos mais de 200.000 crianças são hospitalizadas por esta condição anualmente, e mais de 500 destas evoluem para óbito (GLASS, 1991).

A contaminação pela via fecal-oral é estabelecida como principal mecanismo de transmissão da diarreia. A dispersão de fezes humanas ou de animais no meio ambiente e a sua chegada até os indivíduos susceptíveis ocorrem, basicamente, através da contaminação da água e dos alimentos. Uma rede precária de serviços básicos de saneamento facilita a contaminação fecal do solo e do ambiente doméstico, favorecendo a proliferação dos agentes associados à diarreia infecciosa (VICTORA et al., 1988).

Dados nacionais demonstraram reduções expressivas na prevalência da diarreia (de 1,7 % para 0,9 %) e na incidência anual de hospitalizações pela doença (2,21 para 0,79 internações por 100 crianças/ano) na cidade de São Paulo (BENÍCIO; MONTEIRO, 2000). Outros estudos apontam uma tendência contrária. Em um hospital de referência em Recife/Pernambuco a diarreia apresentou-se como principal causa de hospitalização entre os anos de 1999 a 2000, representando 55,6 % dos casos (FALBO; ALVES, 2002).

Em vários estudos populacionais, os números têm demonstrado que, embora os episódios de diarreia persistente sejam menos frequentes que os episódios de diarreia aguda, são eles os mais passíveis de conduzir o paciente a evoluções desfavoráveis (WHO, 1988). Dados nacionais de 1998 apontaram para uma taxa de mortalidade de 11.1% num grupo de 189 crianças hospitalizadas por diarreia persistente (ANDRADE et al., 1998).

Um estudo realizado no nordeste do Brasil avaliou 246 crianças hospitalizadas por doença diarréica, das quais 43.1 % tinham diarréia aguda e 56.9 8% diarréia persistente. Nesse estudo, embora a taxa de mortalidade tenha sido de 15 %, das 37 crianças que foram a óbito 27 (72.9%) tiveram episódios persistentes (LINS; SILVA, 2000).

Na doença diarréica aguda, o processo de lesão tecidual é autolimitado e o equilíbrio se restabelece habitualmente em poucos dias (WHO, 1998). Contudo, na diarréia persistente alguns fatores, de difícil controle, associados tanto ao agente etiológico como ao hospedeiro, determinam a perda desse caráter autolimitado, podendo os episódios se prolongar indefinidamente, causando desequilíbrios hidroeletrolíticos importantes e comprometimento do estado nutricional (VANDERHOOF, 1990).

Apesar de não haver um consenso absoluto na literatura quanto ao manejo da diarréia persistente, já está bem documentado que o componente nutricional tem papel decisivo na evolução clínica da doença (BHATNAGAR et al., 1996; BUTTA et al., 1996; GRACEY, 1999). A infecção afeta, adversamente, o estado nutricional do indivíduo através da redução na ingestão dietética e da absorção intestinal, aumentando o catabolismo e o desvio de nutrientes que são requeridos para a síntese de tecidos, células e crescimento. Isto traz como conseqüência uma interferência no aporte de nutrientes essenciais para a manutenção do sistema de defesa antioxidante. Na Guatemala, Martorell (1980) aponta uma redução na ingestão energética em crianças de aproximadamente 30 % durante episódios de infecção aguda (MARTORELL; YARBROUGH; HEINECKE, 1980).

Atualmente, a discussão sobre as alterações metabólicas ocorridas na vigência de um episódio de diarréia persistente, tem apontado para a participação do stress oxidativo caracterizado pela produção de espécies reativas de oxigênio (radicais livres) e depleção das defesas antioxidantes do organismo. Esta condição tem sido diretamente implicada no estabelecimento de um ciclo vicioso: infecção – má absorção – prolongamento da diarréia (GRANOT et al., 2001; GRANOT et al., 2004). Essa idéia é reforçada por Khaled (1994) quando discute que o ciclo vicioso infecção, desnutrição e má absorção têm papel fundamental na perpetuação da diarréia persistente, devido à geração de espécies reativas de oxigênio (radicais livres) e depleção das defesas antioxidantes do organismo que levam ao maior dano tecidual a mucosa intestinal em crianças desnutridas.

A não interrupção desse processo de dano tecidual tem sido reconhecida como um dos mais importantes mecanismos de manutenção do episódio diarréico, sendo as causas mais prováveis dessa agressão continuada, a infecção por microorganismos que atuam invadindo a mucosa ou aderindo à sua face luminal e, o comprometimento da capacidade de recuperação da mucosa do hospedeiro (WHO, 1988; ANDRADE et al., 2000).

Alguns estudos apontam para a importante correlação entre a redução das reservas antioxidantes com o prolongamento da duração de processos patológicos crônicos como a desnutrição energético-protéica, doenças coronarianas, HIV e, também, a diarréia persistente (SALEM et al., 1999; MANARY; YARBROUGH; KLEIN, 2000; FECHNER et al., 2001; GRANOT et al., 2004). Dados da literatura reforçam essa idéia mostrando que crianças que apresentam patologias crônicas, dentre elas a desnutrição e a diarréia persistente, estão expostas a um maior grau de stress oxidativo e a outros fatores que comprometem suas defesas antioxidantes (JACKSON, 1986, 2002; SALEM et al., 1999; GRANOT et al., 2001; GRANOT et al., 2004).

O consumo alimentar guarda uma forte correlação com os níveis corporais de elementos antioxidantes que podem ser provenientes da dieta (Vit. A, Vit. C, Vit. E, zinco, etc.) ou sintetizados endogenamente como a superóxido dismutase (SOD), glutathione (GSH), catalase (CAT) entre outros (BIANCHI; ANTUNES, 1999). O tripeptídeo GSH tem sido apontado como um dos mais importantes antioxidantes endógenos podendo ser encontrado em diversos tecidos do organismo incluindo o intestino. A N-acetilcisteína (NAC), uma variante acetilada do aminoácido L-cisteína, é convertida no organismo em metabólitos capazes de estimular a síntese da glutathione, promover detoxicação celular e atuar diretamente na captação de radicais livres (HAGEN et al., 1990). A NAC vem sendo utilizada no tratamento da intoxicação hepática induzida pelo acetaminofen e parece ter efeitos benéficos em condições clínicas, caracterizadas por elevado stress oxidativo ou baixos níveis de glutathione, como a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), o câncer, as enfermidades cardíacas e a desnutrição (FLANAGAN; MEREDITH, 1991; KELLY et al., 1998; GEBARA; MATIOLO, 2006).

Considerando as propriedades antioxidantes da NAC e o elevado catabolismo tissular, ocorrido na diarréia persistente, além dos poucos trabalhos existentes na literatura sobre o stress oxidativo e sua implicação na diarréia persistente, foi realizado o presente estudo com o objetivo de avaliar se a suplementação dietética com N-acetilcisteína poderia

conduzir a uma melhor evolução do quadro clínico e nutricional de crianças internadas com diarreia persistente.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.0 DIARRÉIA PERSISTENTE: epidemiologia

A partir de 1997 a Organização Mundial de Saúde (OMS) propôs a definição da diarreia persistente como sendo o episódio que se inicia de forma aguda, de origem presumivelmente infecciosa e com duração maior ou igual a 14 dias (WHO, 1998). Este conceito exclui os casos de início insidioso, evolução crônica e ou/recorrente com características de má absorção determinados por doenças hereditárias, doença celíaca, síndrome da alça cega e outras.

Estudos têm mostrado que em países em desenvolvimento cerca de 2 a 20% dos episódios de diarreia aguda progridem para um quadro persistente, sendo as crianças menores de 05 anos de idade as mais acometidas (FANG et al., 1995; KARIM ET AL., 2001; BALLESTER; ESCOBAR; GRISI, 2003). Nesse grupo de crianças, ocorre 30 a 60% dos óbitos por diarreia na infância, e também significativo agravo do estado nutricional. É estimado que a diarreia persistente leve ao óbito mais de 3 milhões de crianças nesses países a cada ano e contribua substancialmente com a desnutrição e sobrevida das mesmas (BLACK, 1993). Dessa forma a diarreia persistente se apresenta como um importante problema de saúde pública (BUTHA, 1996).

No Perú, Lanata et al.,(1991) avaliaram 677 crianças menores de 03 anos de idade durante período de 27 meses, tendo encontrado uma incidência de 8,1 episódios de diarreia aguda por criança ao ano e 0,25 episódios de diarreia persistente. Nesse trabalho, 3,2% dos episódios diarréicos tornaram-se persistentes (LANATA et al., 1991). Dados diferentes foram encontrados em Bangladesh. Avaliando-se 363 crianças por um período de 23 meses, foi verificada uma incidência média 1,5 episódios de diarreia aguda e 0,5 de diarreia persistente ao ano, sendo que 23% dos episódios tornaram-se persistente (HENRY et al., 1992). Em 1995, um estudo realizado no México, avaliou 1034 episódios de diarreia em crianças abaixo dos 05 anos, dos quais 19 foram persistentes com uma prevalência de 1,8/100 crianças com diarreia (2%) (SARTI; TAPIA-CONYER; GUISCAFRÉ, 1995). Na Tunísia, um trabalho que acompanhou 383 crianças hospitalizadas por diarreia por um

período de 2 anos, verificou que 19,9% (74) evoluíram para diarreia persistente (ANDRADE; MOREIRA; NETO, 2000).

No Brasil, a epidemiologia da diarreia persistente (DP) ainda é pouco conhecida, especialmente porque os dados sobre incidência variam bastante de uma região para outra, fato este que pode estar relacionado aos diferentes fatores causais que atuam e predominam em cada área. Sabe-se que a mortalidade por doença diarreica em menores de 05 anos atinge 6,9% dessa população tendo um maior impacto na região Nordeste do país. Em um trabalho realizado no nordeste do Brasil, foram estudadas 246 crianças hospitalizadas por doença diarreica, das quais 43,1% tinham diarreia aguda e 56,9 % diarreia persistente. Nesse estudo, embora a taxa de mortalidade tenha sido de 15%, das 37 crianças que foram a óbito 27 (72,9 %) tiveram episódios persistentes (LINS; SILVA, 2000). Um estudo anterior, também realizado no Nordeste do Brasil, que avaliou crianças menores de três anos, hospitalizadas por diarreia, por um período de três anos mostrou que 10% dos episódios diarreicos evoluíram por mais de 14 dias (FANG et al., 1995). Dados anteriores de um trabalho realizado no Sul do Brasil em 1992 mostraram que de 227 óbitos devido doença diarreica, que aconteceram em crianças num período de 01 ano, 10% foram por disenteria, 28% por diarreia aguda e 62% por diarreia persistente (VICTORA, 1992).

A progressiva redução na mortalidade por doenças diarreicas que vem sendo observada pode ter sido favorecida pela implantação do programa de controle da doença diarreica (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1995). Apesar disso, o número de episódios diarreicos continua elevado no país, principalmente nas áreas mais carentes. Em algumas regiões a diarreia persistente apresenta alta prevalência, chegando a níveis superiores a 50%.

2.1 DIARRÉIA PERSISTENTE: etiopatogenia

Diversos componentes estão relacionados com o caráter persistente de um episódio diarreico, e a identificação de fatores de risco diretamente relacionados à diarreia persistente tem sido considerada de fundamental importância para a compreensão de sua gênese (LINS; MOTTA; SILVA, 2003; SILVA; LIRA; LIMA, 2004). Em 1995, um estudo apontou como principais fatores de risco em ordem de importância: episódios prévios de diarreia persistente, desnutrição, tempo de lactância menor do que 01 mês, uso

de antibióticos, infecções mistas, episódios prévios de diarreia aguda e identificação de enteropatógenos nas fezes (ANDRADE et al., 2000). Algumas características da fase inicial do episódio diarreico como diarreia de alto débito e presença de leucócitos, sangue ou pus nas fezes predizem sua possível persistência (LINS; MOTTA; SILVA, 2003).

Em um estudo realizado no Quênia, 63% das crianças com diarreia persistente tinha idade inferior a 01 ano de vida, sugerindo que este grupo etário seria mais vulnerável a persistência do episódio diarreico (MBORI-NGACHA et al., 1995). Além destes, outros fatores também têm sido apontados como predisponentes ao prolongamento de um episódio diarreico como a escolaridade materna, antecedentes de diarreia nos três meses anteriores à internação e baixo peso de nascimento (PINTO; BARROS-FILHO; BARROS, 1998).

O componente alimentar desempenha também um importante papel de proteção ou causa dos episódios de diarreia persistente. A prática do aleitamento materno atua como fator de redução do tempo de duração e da frequência de episódios diarreicos em crianças, quando comparada com o aleitamento artificial. A OMS em 1992, ao reportar dados do programa de controle de doenças diarreicas, reafirma esse papel protetor do aleitamento materno, quando demonstra um risco três vezes maior de desenvolver diarreia persistente nas crianças em regime de aleitamento misto, sendo esse risco cinco vezes maior nas crianças não aleitadas ao seio (WHO, 1992).

Muitas bactérias e parasitas que são conhecidas como causadoras de diarreia aguda têm sido também isoladas em pacientes que evoluem com diarreia persistente. Ainda hoje não há uma evidência clara para uma etiologia específica da diarreia persistente. Já foi descrita anteriormente e tem sido suscitada como uma das possíveis causas da diarreia persistente, a ocorrência de associação entre vários agentes enteropatogênicos em um mesmo episódio diarreico. Acredita-se que, nesses casos, o prolongamento da diarreia seja o resultado de infecções simultâneas por diferentes patógenos que, de forma seqüencial, se alternam “no comando” do episódio diarreico (MCAULIFFE et al., 1980; GONZALEZ, 1995).

Alguns estudos apontam para possíveis enteropatógenos causadores da diarreia persistente. Das bactérias enteropatogênicas, a *Escherichia coli* (*E. coli*) é o organismo mais frequentemente encontrado nos quadros diarreicos persistentes (NATARO; KAPER,

1998). As *E. coli* expressam diferentes padrões de virulência. As que têm capacidade de aderir às células intestinais são chamadas de enteroaderentes. Após esse processo inicial de adesão aos enterócitos, se segue a instalação das lesões características da infecção por *E. coli* enteroaderente, como o desarranjo da arquitetura das microvilosidades, desorganização de elementos do citoesqueleto e diferentes graus de atrofia vilositária (ULSHEN; ROLLO, 1980; FAGUNDES-NETO et al., 1996). Estas modificações são responsáveis pelo comprometimento de importantes mecanismos digestivo-absortivos intraluminares, o que poderá favorecer o agravo e o prolongamento da diarreia. Além disso, freqüentemente, os pacientes cursam com intolerância aos carboidratos da dieta, quando não apresentam intolerâncias a múltiplos nutrientes, o que em muito favorece a perpetuação da diarreia e o agravo do estado nutricional (FAGUNDES-NETO et al., 1989).

Outro agente freqüentemente associado aos casos de diarreia persistente é o *Cryptosporidium spp* que atualmente é reconhecido como agente causal de diarreia tanto em pacientes imunodeprimidos como em imunocompetentes. O *Cryptosporidium spp* pode causar uma moderada enteropatia com redução da altura das vilosidades intestinais e diminuição da atividade das dissacaridases levando a um desequilíbrio entre absorção e secreção, com má absorção e tendência a quadro persistente (FANG et al., 1995; BARDHAN et al., 1998).

A possível ação dos enteropatógenos como causadores de diarreia persistente pode prescindir da sua presença no intestino. A lesão ocasionada na mucosa pode manter-se por período superior a duas semanas, principalmente em crianças de pouca idade e/ou reduzida competência imunológica. O quadro de diarreia e a agressão infecciosa, que ocorrem durante a fase aguda da doença, levam a atrofia vilositária com secundária perda das dissacaridases, sendo a lactase a mais susceptível dentre elas. A redução dessa enzima pode levar a uma intolerância à lactose com má absorção e risco para a persistência da diarreia (BALLESTER; ESCOBAR; GRISI, 2002).

De maneira geral a principal ação dos agentes enteropatogênicos para o prolongamento do episódio diarreico está relacionada à lesão tecidual à mucosa intestinal, dificultando sua recuperação e suplantando os mecanismos de defesa intestinais (Figura 1).

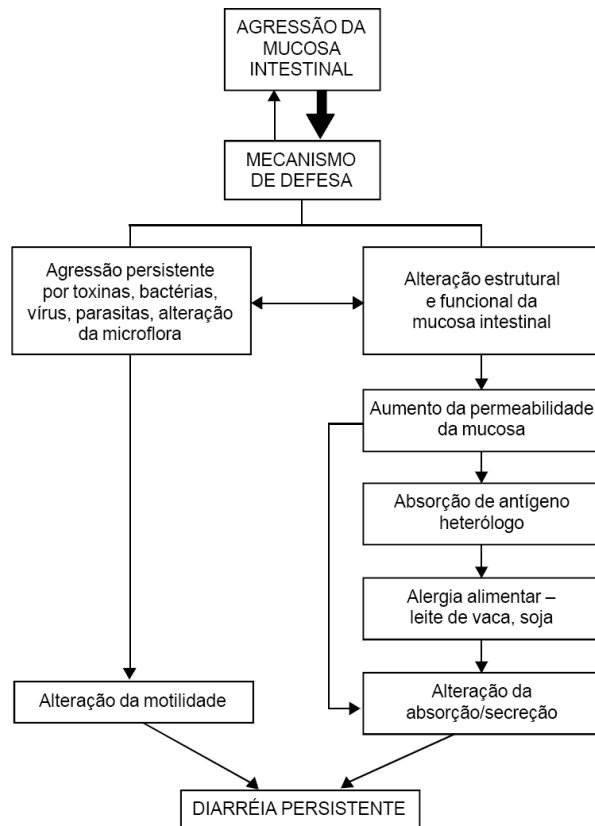


Figura 1 – Fisiopatogenia da diarreia persistente.

2.2 DIARRÉIA PERSISTENTE: comprometimento do estado nutricional

Existe uma estreita associação entre desnutrição e diarreia, sendo habitual, nas áreas de subdesenvolvimento sócio-econômico a alta prevalência de doenças carenciais e infecciosas, constituindo uma problemática de saúde predominante nos países em desenvolvimento. Estudos evidenciam uma correlação negativa significativa entre a prevalência de diarreia e padrão de crescimento de crianças (BLACK; BROWN; BECKER, 1984). Muitos estudos têm apontado para a importância do estado nutricional na gênese da diarreia persistente. O estado nutricional da criança, durante o quadro infeccioso agudo, é um dos fatores de risco mais importantes para a persistência da diarreia, como observado em vários estudos realizados em Bangladesh, Índia e Brasil (GONZALEZ et al., 1995; LIMA et al., 2000). Verifica-se uma estreita relação entre a ocorrência de desnutrição e o prolongamento da diarreia e, ao que parece, na maioria dos casos, essas duas condições praticamente coexistem, chegando alguns autores até mesmo a defenderem

a adoção de uma nova nomenclatura para o que chamam de “síndrome diarréia-desnutrição” (BHANDARI et al., 1989; SCHORLING et al.,1990; BHUTTA et al.,1996; WHO,1996). Dessa forma a recuperação nutricional é um ponto central no tratamento do doente com diarréia persistente.

A desnutrição leva a alterações da mucosa intestinal com redução do índice mitótico e da borda em escova. Este fato, além de predispor a mucosa intestinal à agressão, dificulta a recuperação por falta de nutrientes disponíveis.

Um estudo realizado no Brasil revela dados de uma coorte onde os autores acompanharam crianças do nascimento até os 03 anos e observou significativo comprometimento do estado nutricional após um episódio de diarréia persistente e subsequente uma maior predisposição à ocorrência de novos episódios de doença diarréica (LIMA et al., 2000).

As alterações morfológicas que ocorrem na mucosa intestinal de pacientes com diarréia persistente podem causar importantes mudanças na capacidade absorptiva das vilosidades intestinais. Há atrofia de vilos e hiperplasia das criptas, perda da borda em escova e redução das enzimas intracelulares e digestivas (BHUTTA; HENDRICKS, 1996). A menor absorção de proteínas, gorduras e carboidratos podem, por sua vez, dificultar a recuperação da mucosa intestinal lesada e, portanto, perpetuar o quadro diarréico.

O mecanismo de absorção de nutrientes fica alterado com comprometimento, mais importante, da absorção de carboidratos. Por se localizarem na face luminal dos enterócitos, as dissacaridases são quase sempre afetadas nos processos de dano tecidual (BHUTTA; HENDRICKS, 1996). Por se localizar mais apicalmente nos enterócitos, a enzima lactase é a primeira a sofrer redução na vigência de um processo diarréico que persiste, o que tem sustentado algumas condutas de redução ou mesmo retirada da lactose da dieta dessas crianças (BALLESTER et al., 2003).

Devido a todas as alterações causadas à mucosa intestinal a absorção de nutrientes fica muitas vezes comprometida o que pode levar a uma redução na ingestão calórica, protéica, de vitaminas e minerais, além de outros componentes alimentares, o que predispõe ao aparecimento da desnutrição. Estudos têm mostrado que crianças sofrendo de desnutrição apresentam uma redução das suas defesas antioxidantes, e estas por sua vez têm sido implicadas na gênese e perpetuação do dano intestinal (KHALED, 1994;

GRANOT et al., 2004). O Stress oxidativo tem sido sugerido como fator de predisposição para o desenvolvimento da diarreia.

2.3 STRESS OXIDATIVO

O estresse oxidativo pode ser definido como uma alteração no balanço corporal entre a produção de radicais livres e as defesas antioxidantes, e está relacionado a situações onde os mecanismos celulares pró-oxidantes superam os mecanismos de defesas incluindo os sistemas enzimáticos e outros antioxidantes (GRANOT; KOHEN, 2004). É um estado em que há uma elevada produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e está comumente ligado a danos celulares como, por exemplo, peroxidação de lipídios, fragmentação de proteínas e danos em ácidos nucleicos.

O organismo humano sofre com a ação constante de ERO e espécies reativas de nitrogênio (ERN), geradas a partir de processos inflamatórios, por alguma disfunção biológica, ou proveniente dos alimentos (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004; BARREIROS; DAVID, 2006). Fontes exógenas de ERO incluem poluentes do ar, gases naturais deletérios (ozônio e altas concentrações de oxigênio ou oxigênio hiperbárico), efeitos de irradiação ionizante e não ionizante, agentes químicos, além de bactérias e vírus (MENZAL, 1994; PODDA et al., 1998). As fontes endógenas de agentes oxidativos incluem enzimas que podem, indiretamente produzir ERO, como por exemplo, a enzima xantina oxidase que converte xantina em ácido úrico também converte oxigênio em radical superóxido durante esse processo, e a óxido nítrico sintetase que pode produzir óxido nítrico (ON), radical que interage com os radicais superóxido resultando em uma espécie de oxigênio deletério o peroxidonitrito. A Figura 2 apresenta algumas espécies reativas de oxigênio com potencial ação danosa ao organismo pela formação dos radicais livres.

Figura 2. Algumas espécies reativas de oxigênio, juntamente com sua meia vida em segundos.

| Espécie Reativa de Oxigênio | | Meia-vida (segundos) |
|-------------------------------|------------------------|----------------------|
| HO | Radical Hidroxilar | 10^{-9} |
| HO ₂ | Radical Hidroperoxilar | Instável |
| RO | Radical Alcoxilar | 10^{-6} |
| ROO | Radical Peroxilar | 7 |
| H ₂ O ₂ | Peróxido de Hidrogênio | - (Enzimático) |
| O ₂ - | Radical Superóxido | - (Enzimático) |
| ¹ O ₂ | Oxigênio Singleto | 10^{-5} |
| Q | Radical Semiquinona | Dias |
| NO | Radical Oxido Nítrico | 1 - 10 |
| HOCL | Ácido Hipocloroso | Estável |
| ONOO- | Peroxinitrito | 0,05 - 1 |

Obs: R é um lipídio, por exemplo o linoleato.

Fonte: Vannucchi et al., (1998).

O papel do stress oxidativo nos estados de doença vem sendo certamente, um dos objetos de maior estudo na última década. Um estudo realizado em 2001 observou que em crianças com desnutrição energético-protéica grave o stress oxidativo predispõe ao desenvolvimento de diarreia persistente (GRANOT et al., 2001).

No fígado, as espécies reativas de oxigênio são também citocinas chaves e mediadores implicados na fisiopatologia de doenças hepáticas, incluindo a hepatite viral (HARA et al., 2006). Em pacientes cardíacos, já foi sugerido um potencial papel da homocisteína em altas concentrações plasmáticas, prejudicando a função endotelial através de ERO como o ânion superóxido, o peróxido de hidrogênio e a hidroxila (ROSINI et al., 2006; GEBARA; MATIOLI, 2006).

Na faixa etária pediátrica o stress oxidativo tem sido implicado na patogênese de inúmeras doenças. No período neonatal estas incluem displasia bronco-pulmonar, retinopatia da prematuridade, enterocolite necrotizante, dano cerebral perinatal e hemocromatose neonatal (GRANOT et al., 2004). Em grupos etários mais velhos, asma, fibrose cística, artrite reumatóide juvenil, doença colestática do fígado, doenças diarreicas e Kwashiorkor, entre outras têm sido ligadas ao stress oxidativo (COOKE, 1991; PORTAL et al., 1995; HAMMERMAN., 1999; GRANOT et al., 2001; BADALOO et al., 2002).

Em cada patologia existem diversos mecanismos de geração de radicais livres que provocam alterações no funcionamento de órgãos e sistemas. No grupo de condições que incluem a enterocolite necrotizante, retinopatia da prematuridade e dano cerebral perinatal, o mecanismo comumente associado é a injúria pela isquemia de reperfusão com geração de ERO durante o metabolismo de ATP (HAMMERMAN, 1999). Em crianças desnutridas acometidas por diarreia, a formação de ERO e redução das defesas antioxidantes, têm sido implicadas na patogênese e perpetuação da agressão intestinal. Estudos envolvendo crianças desnutridas e com desnutrição edematosa, têm demonstrado redução nas concentrações de vitaminas antioxidantes (A e E) e baixos níveis da enzima antioxidante glutaciona peroxidase (GOLDEN; RAMDATH, 1987; KHALED, 1994).

2.3.1 Stress oxidativo e mucosa intestinal

Dentre todos os órgãos do corpo com alta instabilidade devido às renovações teciduais, o intestino é o que apresenta maior *turnover* com um ciclo médio de renovação dos enterócitos em torno de 48 – 72 horas (AW, 1999). Por ser um sítio de interface entre o organismo e o ambiente luminal, representa uma importante barreira de defesa contra agentes tóxicos. Em adição, a constante exposição da mucosa intestinal aos nutrientes, faz com que ocorra uma provocação dessas células pelos agentes oxidantes derivados da dieta, agentes mutagênicos e carcinogênicos bem como à ERO produzidas endogenamente (AW, 2001).

Para preservar a integridade celular e a homeostase dos tecidos, o intestino possui vários mecanismos de defesa com habilidade para: manter uma alta concentração de agentes antioxidantes (GSH, tocoferol, e ácido ascórbico), auto-ajustar os sistemas enzimáticos antioxidantes (glutaciona peroxidase, glutaciona redutase, superóxido dismutase), e induzir à morte celular por apoptose os enterócitos lesados ou gastos (AW, 1999).

No intestino, o dano ao epitélio é resultado de uma resposta inflamatória que é geralmente consequência de um evento secundário. O evento primário é uma sistemática cascata inflamatória de neutrófilos aderentes às células do endotélio vascular, rompimento da barreira endotelial, e subsequente infiltração de células inflamatórias para o interstício intestinal, onde oxidantes e proteases são liberadas e produzem injúria à mucosa.

Um estudo realizado para avaliar o efeito de um agente oxidante (hidroperóxidos de lipídeos) revelou que na mucosa intestinal houve uma inibição da proliferação e apoptose normal dos enterócitos, indicando uma diferença fundamental no controle intestinal da morte celular programada em resposta a uma provocação aguda ou crônica pelo radical peróxido (AW; TSUNADA, 1997). A alteração crônica, induzida pelo peróxido, no controle dos processos de *turnover* das células intestinais é significativa. Em condições normais induz a apoptose ou proliferação celular para preservação alcançando um estado de balanço homeostático no enterócito. Porém a ocorrência de alterações mediadas por oxidantes, na morte celular ou atividade proliferativa pode acelerar a quebra da homeostase do órgão com importantes implicações para o desenvolvimento de distúrbios intestinais.

2.3.2 Sistema de defesa antioxidante

Os radicais livres promovem reações com substratos biológicos podendo ocasionar danos às biomoléculas e, conseqüentemente, afetar a saúde humana. O corpo humano apresenta sistemas de defesas naturais contra as espécies reativas, que mais do que defender mantêm suas concentrações em níveis compatíveis com a atividade biológica. Esse sistema de defesa é conhecido como antioxidante, que é responsável pela redução e inibição das lesões causadas às células pelos radicais livres (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Uma ampla definição de antioxidantes é “qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz”. Os sistemas de proteção do organismo podem atuar de forma associada ou independente por duas vias: 1) enzimática que é composta pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), NADP-quinona oxidoreductase, e a glutathione peroxidase (GPX). Essas enzimas são ativadas, normalmente, durante o metabolismo celular, porém suas atividades podem aumentar em função da presença de ERO. 2) não enzimática, que inclui as vitaminas E, C e betacaroteno, selênio, proteínas do plasma, flavonóides, glutathione (GSH) e N-acetilcisteína (NAC) entre outros. Grande parte desses antioxidantes é encontrada na alimentação e pode ser suplementada através da dieta (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Os agentes antioxidantes atuam em diferentes níveis na proteção do organismo: 1) impedindo sua formação, principalmente pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre; 2) interceptando os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular (antioxidantes da dieta como vitaminas A,C e E, os flavonóides e carotenóides são extremamente importantes na interceptação dos radicais livres); 3) reparando as lesões causadas pelo radicais livres através da remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares danificadas; e 4) em algumas situações pode ocorrer um adaptação do organismo em resposta a geração desses radicais com o aumento da síntese de enzimas antioxidantes.

Entre as enzimas envolvidas no mecanismo de defesa do organismo contra a ação das ERO, a GSH apresenta papel de destaque por se tratar da enzima mais abundante no organismo. A GSH é considerada o maior antioxidante endógeno, importante nas linhas de defesas do organismo contra o stress oxidativo (ORTOLANI, 2000; SHIH, 2006). Trata-se de um tripeptídeo, γ -glutamilcysteinil glicina, encontrado em muitas plantas, microorganismos, e em todos os tecidos de mamíferos. Cerca de 90 % da glutathiona celular encontra-se no citosol da célula, 10 % na mitocôndria, e uma pequena porcentagem no retículo endoplasmático (LU, 1999).

Os maiores determinantes da síntese de GSH são a biodisponibilidade da cisteína (aminoácido precursor), e a atividade da enzima limitante γ -glutamilcisteína sintetase (GCS). A cisteína funciona como fator limitante para a síntese da GSH. No fígado, dentre os fatores que determinam a biodisponibilidade da cisteína encontram-se a dieta, a atividade de transporte através da membrana de três aminoácidos sulfurados cistina, cisteína e metionina, e a conversão de metionina à cisteína via trans-sulfuração (LU, 1999).

Já foi demonstrado que as concentrações de GSH tanto hepáticas como pulmonares podem ser restabelecidas com a suplementação oral de um único substrato, a cisteína, sem o suporte nutricional completo (VANNUCCHI et al., 1998). Dessa forma, um aporte insuficiente de cisteína na dieta, pode contribuir para uma menor produção desse agente antioxidante.

Na mucosa intestinal a GSH tem a função de manutenção da integridade do epitélio. Estudos em animais têm demonstrado que a GSH ocupa a superfície luminal do

intestino curto, sendo restabelecida pelo *pool* intracelular de GSH, o que reforça a teoria que a GSH luminal pode contribuir significativamente para a eliminação de peróxidos neste epitélio (AW, 2001).

Um estudo realizado em Gana com crianças com Kwashiorkor evidenciou alterações nos níveis plasmáticos de antioxidantes, redução da albumina e dos níveis de GSH eritrocitária. Nesse estudo, os autores relacionaram o dano oxidativo ao estado de desnutrição (FECHNER et al., 2001).

Recentes terapias reforçam dois mecanismos de ação para o combate ao stress oxidativo: a redução na formação de radicais livres e a melhoria das defesas antioxidantes, principalmente através do reforço do conteúdo intracelular de GSH. Até o presente, a mais aplicável terapia parece ser a estimulação da síntese GSH, fornecendo aos pacientes uma ou várias das substâncias precursoras (WESSNER et al., 2003).

A aparente importância da deficiência de GSH na etiologia de diversas doenças tem aumentado o interesse em estudos que avaliem o efeito da administração de precursores de GSH sobre o potencial redox do organismo.

2.3.3 N-acetilcisteína (NAC)

A N-acetilcisteína (N-Acetyl-L-Cysteine- NAC) é o antioxidante mais utilizado em estudos experimentais e clínicos, trata-se de um aminoácido acetilado da cisteína, intermediário na síntese de GSH. O grupo tiol na molécula de NAC também tem uma atividade antioxidante direta. *In vitro* e *in vivo* estudos têm mostrado que a NAC funciona como um doador de cisteína e um precursor de GSH. No entanto, seu uso principal é farmacologicamente para a reconstituição da cisteína e GSH que são perdidos devido à toxicidade por acetaminofen (ATKURI et al., 2007).

NAC é quimicamente semelhante à cisteína. A presença do grupamento acetil, no entanto, reduz a reatividade do tiol em comparação com a de cisteína. Assim, em comparação com a cisteína, NAC é menos tóxica, menos susceptível à oxidação (e dimerização) e é mais solúvel em água, tornando-se uma melhor fonte de cisteína do que a administração parenteral da mesma.

A atividade antioxidante da NAC foi proposta com base principalmente em dados de estudos *in vitro*, onde NAC tem demonstrado a redução do dano e morte celular induzidos por apoptose (ZAFARULLAH et al., 2003). Estudos recentes, porém, indicam que os efeitos benéficos da NAC observados em cultura de células, é devido, pelo menos em parte, a reconstituição do GSH intracelular que é perdido em células mantidas sob típicas condições atmosféricas (ATKURI et al., 2007).

A NAC é um agente atrativo para ensaios clínicos, pois há alguns anos tem sido utilizada de maneira segura para o tratamento de intoxicação por acetaminofen e como mucolítico em doença pulmonar obstrutiva crônica. A suplementação com NAC tem mostrado uma redução na proliferação de certas células de revestimento do cólon, e pode reduzir o risco de câncer de cólon em pessoas com pólipos recorrentes (FAVILLI et al., 1997). Outros estudos evidenciaram que o uso de NAC oral produziu uma melhora dramática em pacientes com a doença de Unverricht-Lundborg, uma doença metabólica degenerativa, que envolve crises convulsivas e progressivo retardo (WITSCHI et al., 1992).

A capacidade de agir de forma análoga à glutathiona, reagindo com os radicais livres através dos grupos sulfidríla (doa elétron e transforma-se em cistina) ou como substrato para a sua síntese (cedendo a cisteína), explica o mecanismo de ação da N-acetilcisteína (NAC) como substância antioxidante. Essa propriedade tem originado diversos estudos que buscam elucidar a sua eficácia na prevenção e tratamento das lesões associadas à formação de radicais livres.

Poucos estudos foram realizados avaliando o efeito do uso de NAC no processo diarréico. Em 2001 um trabalho procurou avaliar se em crianças eutróficas, com diarréia aguda, o stress oxidativo era fator de perpetuação da diarréia. Neste estudo não foi encontrada correlação entre o prolongamento da diarréia e redução das defesas antioxidantes (GRANOT et al., 2001).

Nenhum estudo, até o presente momento, avaliou o efeito da diarréia persistente sobre as defesas do organismo contra os radicais livres e as implicações do manejo dietético com ênfase nos fatores antioxidantes, como coadjuvantes no tratamento desta condição clínica. Nosso propósito foi avaliar, através de um estudo controlado, duplo-cego,

aleatorizado, o efeito da suplementação dietética com um agente antioxidante (NAC) no manejo nutricional de crianças menores de três anos com diarreia persistente.

3. OBJETIVOS

3.0 Objetivo geral

Avaliar o efeito da suplementação dietética com um agente antioxidante, a N-acetylcisteína (NAC), na evolução clínica de crianças com diarreia persistente.

3.1 Objetivos específicos

Avaliar o efeito da suplementação dietética com NAC sobre a perda fecal de crianças hospitalizadas com diarreia persistente.

Avaliar o efeito da suplementação dietética com NAC sobre a duração do episódio diarreico de crianças hospitalizadas com diarreia persistente.

Avaliar o efeito da suplementação dietética com NAC sobre o estado nutricional de crianças hospitalizadas com diarreia persistente.

4. HIPÓTESE DO ESTUDO

O uso da N-acetilcisteína (NAC) como suplemento dietético em crianças com diarreia persistente, trará um efeito positivo no que diz respeito à redução da duração do episódio diarréico (e conseqüentemente do tempo de internamento) e redução na perda fecal.

5. METODOLOGIA

5.0 Desenho do estudo

Trata-se de ensaio clínico, duplo-cego e randomizado, placebo controlado.

5.1.1 Descrição das condições

Estudo realizado em parceria com a Universidade alemã Justus Liebig University e o Centro de Pesquisa Fima Lifshitz (CPFL). Os pacientes estudados eram provenientes do Pronto Atendimento (PA) do Centro Pediátrico Professor Hosannah de Oliveira (CPPHO) – Hospital Universitário Professor Edgard Santos (HUPES) – Universidade Federal da Bahia (UFBA).

O estudo foi conduzido no Centro de Pesquisa Fima Lifshitz, que possui três enfermarias com 16 leitos projetados e reservados para estudos metabólicos em doenças diarréicas e nutricionais. Seis leitos são destinados a pacientes com diarréia, possibilitando o estudo deste quantitativo de pacientes ao mesmo tempo.

A equipe de profissionais de saúde que participou deste ensaio clínico faz parte do quadro de pessoal técnico do Centro de Pesquisa Fima Lifshitz.

5.1.2 Dimensionamento da amostra

A amostra para este estudo foi estabelecida como sendo suficiente para detectar uma redução de 30% na perda fecal e na duração da diarréia, por cada um dos planos dietéticos utilizados e considerando uma modelo de análise bicaudal. Considerando-se um *erro beta* de 0,80 e um *erro alfa* de 0,05, sendo necessários 59 pacientes por plano dietético.

A equação utilizada para o cálculo do tamanho da mostra foi (WHO, 1991):

$$N = \frac{2\sigma^2 (Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

Onde:

σ = desvio padrão

α = erro tipo I

β = erro tipo II

μ_1 = média conhecida

μ_2 = média esperada

No entanto, no decorrer do estudo com as constantes revisões bibliográficas foi observado que o NAC, em diversos estudos envolvendo outras situações clínicas tanto em crianças quanto em indivíduos adultos, com número de pacientes bem reduzidos, não apresentava efeito ou reações adversas, mesmo quando em altas doses. Dessa forma assumimos, para análise dos dados, uma hipótese unicaudal. Além disso, por questões operacionais relacionadas com a diminuição do número de casos de diarreia persistente atendidos na Unidade Metabólica Fima Lifshitz, as limitações impostas pelos critérios de inclusão, processo de reforma nas enfermarias do Centro de Pesquisa levando há um tempo demasiadamente prolongado para conclusão da amostra inicialmente prevista, optou-se por uma amostra de conveniência de 55 pacientes.

5.1.3 Critérios de inclusão

Foram consideradas elegíveis para o estudo crianças de ambos os sexos com idade entre 02 e 36 meses, com história de diarreia (evacuações líquidas e/ou semi-líquidas, mais de 03 episódios nas últimas 24 horas) com duração maior ou igual a 14 dias e menor que 60 dias, com ou sem sinais de desidratação. Usando o padrão NCHS como referência, foram incluídos pacientes com adequação do indicador peso para altura (P/A) maior que 70 % da mediana esperada. Crianças totalmente desmamadas ou parcialmente alimentadas ao seio (pelo menos 50% das dietas lácteas em período de 24hs à base de leite artificial) foram incluídas no estudo, uma vez que o objetivo era de estimular o aleitamento exclusivo ou complementado. Apenas aquelas crianças que tiveram sua participação no estudo permitida pelos pais e/ou responsável através da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido fizeram parte da amostra (ANEXO 2).

5.1.4 Critérios de exclusão

Crianças com infecções graves diagnosticadas no momento da admissão (pneumonia, meningite, septicemia, etc.) ou sabidamente portadoras de doenças crônicas, má formação congênita, desnutridas graves, em aleitamento materno exclusivo ou que não foram autorizados a participar do estudo pelos pais e/ou responsáveis através da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

5.1.5 Variáveis do estudo

5.1.5.1 Primárias

- Perda fecal total (g) a partir da randomização no estudo até a cessação da diarreia;
- Perda fecal diária (g/kg de peso) a partir da randomização no estudo até a cessação da diarreia;
- Duração do internamento, em horas, desde a randomização até a alta do estudo.
- Duração da diarreia, em horas, da randomização no estudo até a cessação da diarreia.

5.1.5.2 Secundárias

- Ingestão calórica durante a internação em Kcal/kg/dia (desde a randomização até a alta do estudo);
- Quantidade total de fórmula consumida durante toda a internação em g/kg (desde a randomização até a alta do estudo);
- Quantidade total de água e Soro de Reidratação Oral (SRO) durante toda a internação em g/kg (desde a randomização até a alta do estudo);

- Ganho de peso durante a internação em g/kg (desde a randomização até a alta do estudo).

5.1.6 Operacionalização das variáveis

Depois de encaminhados do pronto atendimento, avaliados pela equipe da Unidade Metabólica e preenchidos os critérios de inclusão, os pacientes eram admitidos no estudo. Após sua chegada os pacientes eram desnudos e higienizados. Imediatamente após esse processo eram avaliados antropometricamente. Em seguida, um saco coletor de urina e uma fralda pré-pesada eram colocados para evitar perdas por eliminações inesperadas. Tão logo estes dados preliminares eram coletados, os pacientes eram colocados nos berços metabólicos e submetidos ao restante do exame leitos metabólicos (ANEXO 13), contidos com um dispositivo especialmente desenhado para permitir maior liberdade de movimentos de braços e pernas, porém assegurando uma eficaz coleta das fezes.

A coleta de fezes era realizada em um recipiente plástico, de peso conhecido, colocado em baixo dos leitos metabólicos que, por possuírem um orifício central no colchão, permitem a drenagem das fezes (ANEXO 13). O volume de fezes perdidas era então registrado na folha de controle de perda fecal (ANEXO 5).

A urina era coletada separadamente das fezes através de sacos coletores, os quais eram esvaziados após cada diurese, através de uma sonda afixada aos mesmos com o auxílio de uma seringa de 20,0 ml. O volume de urina era então anotado na ficha de controle de perda urinária (ANEXO 6)

A frequência dos vômitos bem como o seu volume foi documentada. O volume dos vômitos era estimado através da diferença de peso (úmido - seco) dos "babadores" e compressas pré-pesadas. O peso das compressas secas utilizadas era anotado no momento da coleta, para evitar manipulação posterior das mesmas, durante a etapa de cálculo do volume dos vômitos (ANEXO 7).

Todos os dados acerca dos volumes de líquidos ingeridos e do iogurte e suplemento dietético consumidos durante o estudo, eram registrados no formulário de ingestão alimentar (ANEXO 9).

A ingestão do leite materno foi estimada através da diferença de peso da criança antes e imediatamente depois de mamar. Nos momentos de pesagem e durante a mamada o paciente permanecia com uma fralda descartável pré-pesada. O volume do leite materno ingerido também era registrado em formulário específico para este fim (ANEXO 8).

O peso corporal foi obtido na admissão, no momento da randomização, a cada intervalo de 24hs e na alta, pesando-se sempre o paciente despido numa mesma balança e no mesmo horário. A estatura era verificada apenas na admissão.

5.2 Alocação para o grupo de tratamento

5.2.1 Técnica de aleatorização

O estudo foi conduzido de forma duplo-cega e os pacientes foram distribuídos, através de processo aleatório simples, em um dos dois grupos de tratamento para receber uma dieta específica (iogurte com adição do suplemento dietético contendo NAC ou iogurte com adição do placebo). O código de aleatorização foi preparado por um membro do Centro de Pesquisa Fima Lifshitz que não estava envolvido no estudo.

A apresentação do suplemento dietético era em pó, com composição nutricional diferindo apenas quanto à adição de NAC. O suplemento dietético era acondicionado em sachês de plástico, revestidos em alumínio com rótulos diferenciados. Previamente, de acordo com lista de aleatorização, foram preparados Kits contendo 14 sachês do suplemento dietético (suficiente para 07 dias de tratamento) que receberam numeração de acordo com código de randomização dos pacientes. O número dado aos pacientes seguia a ordem de admissão no estudo.

5.2.2 Início do estudo

A alocação a um grupo de tratamento era feita imediatamente após o paciente ter sido considerado elegível para entrar no estudo, sendo o início do tratamento marcado a partir do primeiro horário do recebimento do suplemento dietético (NAC ou placebo) que ocorria em horários pré-estabelecidos (09 ou 21 horas). O momento da primeira tomada do suplemento marcava a randomização do paciente no projeto.

5.3 Recrutamento dos pacientes

5.3.1 Aprovação ética

O protocolo foi aprovado pelo Comitê de ética em Pesquisa do Hospital Universitário Professor Edgard Santos – UFBA (ANEXO 1)

5.3.2 Termo de consentimento livre e esclarecido

Os pais ou responsáveis legais das crianças selecionadas para o estudo eram totalmente informados sobre o ensaio clínico. Apenas os pacientes cujos pais ou responsáveis assinaram o formulário de consentimento foram incluídos no estudo.

O conteúdo da informação no formulário utilizava palavras de fácil entendimento, a respeito da proposta do trabalho, os benefícios e os riscos conhecidos para o paciente, assim como os exames previstos que seriam realizados (ANEXO 2).

Rotineiramente, após estabilização do quadro clínico dos pacientes, era assegurado se os pais ou responsáveis estavam satisfeitos e cientes do protocolo.

5.3.3 Admissão dos pacientes

5.3.3.1 Exame clínico

Anamnese e exame físico detalhados foram realizados no momento da admissão do paciente no projeto, objetivando a coleta dos seguintes dados:

- identificação do paciente;
- descrição dos sintomas antes da admissão;
- descrição de qualquer tratamento adotado para a doença atual;
- descrição da dieta que vinha sendo utilizada antes do início dos sintomas e após o início da diarreia;
- descrição das características das fezes;
- exame físico geral;

- avaliação do estado de hidratação.

Após serem avaliados na triagem e tendo preenchidos os critérios de inclusão, os pacientes eram encaminhados para a admissão na Unidade Metabólica. Imediatamente após sua chegada os pacientes eram desnudos, pesados, higienizados e, então, colocados um saco coletor de urina e uma fralda descartável, pré-pesada, para evitar perdas por eliminações inesperadas. Em seguida, o paciente era avaliado pela enfermagem para verificação dos dados vitais. Tão logo estes dados preliminares eram obtidos, os pacientes eram colocados nos berços metabólicos e submetidos a um exame físico completo.

Ênfase especial foi dada à avaliação do estado de hidratação, que com base nas recomendações da OPAS/OMS, 1987, classificou os pacientes em:

- não desidratados
- com algum grau de desidratação
- com desidratação grave

Na avaliação do estado nutricional, que foi realizada na triagem e após a reidratação, foram obtidos os dados antropométricos de peso e estatura.

As crianças foram pesadas, desnudas, em balança digital marca *Filizola*, modelo *ID 1500*, com sensibilidade de 10g anotando-se o peso em gramas. Para avaliação da estatura, as crianças permaneciam descalças, sendo medidas em antropômetro horizontal de madeira (menores de 2 anos) com precisão de 0,1 cm, e em estadiômetro vertical (maiores de 2 anos), com precisão de 0,1 cm, registrando-se a estatura em centímetros.

A medida da estatura foi obtida com as crianças descalças, em antropômetro horizontal, confeccionado em madeira, com precisão de 0,1 cm.

O indicador antropométrico utilizado para a avaliação do estado nutricional das crianças foi o peso/estatura, por ser considerado o indicador de escolha para as situações que implicam em ações em curto prazo (WATERLOW, 1996). Este indicador identifica a desnutrição de caráter atual, refletindo a manifestação de algum episódio que condicionou perda de peso mais recente, e incorpora a influência dos indicadores altura/idade e peso/idade (OMS, 1997).

O padrão de referência utilizado foi o do National Center for Health Statistics – NCHS (NCHS, 1977). O cálculo dos indicadores foi realizado utilizando o programa ANTHRO, versão 1.01, proposto pela Divisão de Nutrição do “*Center for Disease Control*”, em colaboração com a Organização Mundial de Saúde. Os resultados foram expressos em z-score, que indica a distância entre o valor encontrado e a média da população de referência, levando-se em consideração o desvio-padrão. Os pontos de corte preconizados pela Organização Mundial de Saúde foram utilizados (OMS, 1997).

A anamnese nutricional incluía uma investigação do consumo alimentar que contemplava um inquérito recordatório de 24 horas e padrão habitual de consumo desde o nascimento (ANEXO 4).

5.3.3.2 Avaliação laboratorial

Foram realizados exames bioquímicos no momento da admissão do paciente no projeto e no momento da alta do projeto. Estes exames consistiram em:

5.3.3.2.1 Fezes

Na primeira dejeção anormal (fezes líquidas e/ou semi-líquidas), amostras de fezes eram coletadas e encaminhadas ao laboratório para exame direto de parasitas, utilizando-se técnicas de sedimentação *Zihel-Nilssen* modificado para identificação de *Cryptosporidium* (GARCIA et al., 1983).

Outra alíquota era reservada e conservada a -20° C da primeira dejeção para pesquisa de Rotavírus pelo método ELISA- *Kit EIRA: m Rota* (YOLKEN et al., 1997). Uma terceira alíquota de fezes era coletada para ser semeada em meio apropriado para cultura de enteropatógenos.

Na primeira dejeção eram avaliados ainda pH fecal (Combur 8 test, Boehringer, Mannheim-Wandhof, FRG) e substâncias redutoras (Clinitest, AMES). Foi considerada presença significativa de substâncias redutoras nas fezes valores superiores a 1,0 g%, conforme leitura em escala de cores padronizadas, considerando coloração vermelho tijolo como equivalente a 1,0 g%.

5.3.3.2.2 Sangue

Amostras de sangue eram coletadas, antes da randomização do paciente no estudo (antes da primeira tomada do suplemento dietético) para determinação de eletrólitos (sódio, cloro e potássio), hemograma completo, leucograma, avaliação do estado protéico (proteínas totais e frações), velocidade de hemossedimentação e teste anti-HIV, através de técnicas laboratoriais convencionais.

5.3.3.2.3 Urina

Amostras de urina eram coletadas para acompanhamento da densidade urinária, além da investigação para possíveis infecções (quando assim a clínica sugerisse).

5.3.4 Manejo dos casos

5.3.4.1 Estado de Hidratação

Para os pacientes admitidos sem desidratação foi empregado o Plano A de tratamento, com reposição das perdas fecais, volume a volume, com solução padrão de reidratação oral.

Aos pacientes admitidos com algum grau de desidratação ou com desidratação grave foram aplicados, respectivamente, os Planos B e C de tratamento em duas fases: reparação e manutenção.

5.3.4.2 Fase de reparação oral

Os Pacientes com algum grau de desidratação receberam um volume de 100 ml/kg da solução de reidratação oral padrão (OMS/UNICEF) durante as primeiras 4 a 6 horas. As mães foram orientadas a oferecer pequenas quantidades da solução, por vez, com seringa, copo e colher. Água ou qualquer alimento, com exceção do leite materno, foi oferecido durante este período.

Os pacientes foram clinicamente avaliados à cada 2 horas. Aqueles que mantiveram sinais de desidratação, ao final de um período máximo de 6 horas, receberam uma segunda

reposição com SRO, relativa ao volume da perda fecal do período decorrido, por um período de mais 2 horas. Se ainda assim permaneciam com sinais de desidratação eram tratados segundo o plano C de tratamento.

Aos pacientes admitidos com desidratação grave, foi instalada venóclise para oferta de 50 ml/kg na primeira hora e 25 ml/kg na segunda e terceira hora de uma solução 1:1 contendo 50% de soro fisiológico a 0,9% e 50% de glicose a 5%. Quando, ao final dessas primeiras 3 horas de hidratação venosa, a criança ainda se mantinha desidratada, a terapia de infusão intravenosa era continuada até a reidratação, utilizando-se um volume de 25 - 50 ml/kg/h.

5.3.4.3 Fase de nutrição/ manutenção

Após a terapia de reidratação ter sido alcançada, os pacientes entravam em uma fase de nutrição/manutenção, momento em que voltavam a receber alimentação convencional para idade (alimentos sólidos e semi-sólidos e líquidos) até a hora da randomização no projeto. Quando era então substituída toda a dieta da criança por iogurte natural integral, suplementado com o agente antioxidante ou placebo, até o momento da alta do projeto.

As perdas continuadas (fezes líquidas ou semi-líquidas e vômitos) eram repostas com volumes equivalentes de solução de reidratação oral (SRO) padrão até a cessação da diarreia.

O cálculo das necessidades energéticas era realizado individualmente e atualizado diariamente, de acordo com a recomendação da FAO/OMS/ONU (1985).

De acordo com as listas de aleatorização, as crianças recebiam iogurte natural integral suplementado com NAC ou placebo. O volume total do iogurte determinado para satisfazer as necessidades energéticas diárias era fracionado em 6 a 8 refeições/dia, respeitando o hábito alimentar da criança. Após randomização, os pacientes recebiam, diariamente, via oral, o conteúdo de 01 sachê de 3g de suplemento dietético (contendo NAC ou placebo) em forma de pó, 02 vezes ao dia até a alta do estudo. O sachê com a NAC continha 100 mg do produto + 12,5 mg de vitamina C e o restante de sacarose. O placebo continha 12,5 mg de vitamina C e o restante de sacarose. Os sachês eram

oferecidos aos pacientes como suplemento dietético adicionado ao iogurte em dois horários estabelecidos (09 e 21 horas).

Estudantes de nutrição envolvidas no estudo, paramentadas com jalecos e touca, faziam o preparo do iogurte natural integral e a pesagem das dietas dos pacientes em dois momentos no dia (manhã e tarde), separando em copos descartáveis fechados com o volume de iogurte adequado para cada refeição. Eram fixadas nos copos etiquetas com dados referentes à identificação e horário de oferta ao paciente, além da data da manipulação do iogurte.

Para tornar o iogurte natural integral com uma composição e consistência semelhante à de uma fórmula láctea infantil foi realizada a seguinte diluição: 50% de iogurte, 50% de água, 5% de carboidrato e 2% de gordura.

Além do iogurte natural integral utilizado no estudo, apenas o leite materno foi permitido como outra fonte alimentar.

A dieta era oferecida pelas mães, através de seringas sem agulhas ou utilizando colher e copo (ANEXO 14), sob a supervisão das estagiárias de nutrição ou das auxiliares de enfermagem. Antes e após oferta da dieta a mesma era pesada para ser avaliado o volume consumido.

Para os lactentes em regime de aleitamento misto, o uso do leite materno era incentivado e mantido sob livre demanda. O iogurte foi oferecido em horários regulares de acordo com o hábito Mem que a criança costumava ingerir a fórmula infantil à base de leite de vaca. Para estimativa do volume consumido, os lactentes eram pesados antes e após cada mamada ao seio.

Água era oferecida *ad libitum* durante todo o estudo, assegurando-se que o volume fosse pesado antes e após a oferta.

Após cada 24 horas da randomização no estudo era realizado o balanço metabólico dos pacientes, incluindo todos os líquidos ingeridos: água, soro, leite materno e iogurte. O balanço da ingestão da fórmula era feito em um formulário apropriado que constava de dados referentes à conduta nutricional prescrita e a ingerida (ANEXO 10).

Os pacientes que após introdução da dieta, tinham um consumo calórico inferior a 100 Kcal/kg/dia pela via oral e apresentavam perda ponderal associada começavam a receber dieta via sonda nasogástrica para assegurar ingestão adequada.

No momento em ocorria a cessação da diarreia, associada a ganho ponderal (com peso maior ou igual ao da randomização) o paciente obtinha alta do estudo e a dieta habitual era então reiniciada (papas de frutas, verduras, cereais, etc.), com manutenção do iogurte natural integral como fonte láctea exclusiva (salvo nos casos de aleitamento materno). Se não houvesse intercorrências num período de 48 horas após retorno a alimentação habitual, era concedida alta hospitalar. O paciente era orientado a manter o iogurte natural integral como única fonte láctea da dieta (salvo nos casos de aleitamento materno) por período de 7 dias, quando então retornaria a enfermaria do Centro de Pesquisa Fima Lifshitz para reavaliação com a equipe do estudo e transição para uso da fórmula láctea de uso habitual.

Composição nutricional por 100 mL do iogurte diluído

| | |
|---------------------------------------|-------------|
| Kcal | 76 |
| Proteínas | 1,9 g (15%) |
| Carboidratos | 7,4 g (39%) |
| Lactose | 2,4 g |
| Gorduras | 3,9 g (46%) |
| Osmolaridade/ Osmolalidade | 353 |

5.3.4.4 Manejo do estado clínico

Crianças que desenvolviam infecções após início do estudo, como otite média, disenteria ou infecções respiratórias agudas, eram tratadas de acordo com terapêutica apropriada, sendo mantidas no estudo. Infecções mais graves, como meningite ou sepsis, eram indicações de transferência a outro setor para assegurar monitorização e tratamento apropriados e a criança era então retirada do estudo. As razões para retirada do estudo,

assim como a evolução da doença após a retirada, eram anotadas na ficha do paciente (ANEXO 3).

Terapia intravenosa suplementar estava prevista a qualquer momento para todos os pacientes que falhassem em alcançar a reidratação pela via oral. Na situação de suspeita de hiponatremia grave, enquanto aguardava-se confirmação laboratorial (sódio sérico < a 120 mEq/l), os pacientes recebiam tratamento IV, com solução de NaCl a 3%, com um volume inicial de 12 ml/kg por 2 horas. Assim que fosse obtido o resultado laboratorial, o reajuste era feito de acordo com a resposta clínica e a necessidade de sódio adicional, baseando-se na fórmula: $Na^+ = (130 - Na^+ \text{ atual}) * \text{peso} * 0,6$.

5.3.4.5 Manejo do Fracasso do Tratamento

Quando um paciente preenchia os critérios de fracasso do tratamento o paciente era então retirado do estudo e procedia a mudança do iogurte por uma fórmula infantil dietoterápica que a equipe médica julgasse necessária de acordo com as necessidades clínicas do paciente.

5.3.4.6 Transição da Dieta para Alta Hospitalar

A pós ter sido considerado de alta do estudo, os pacientes permaneceram internados por mais 2 dias para que fosse realizada a transição para a dieta habitual com manutenção do iogurte natural integral como única fonte láctea (salvo nos casos de aleitamento materno).

Após a transição, o paciente tinha alta com orientação de manter o iogurte como fonte láctea por mais uma semana e de retornar ao final desses 7 dias para reavaliação.

Nesse retorno, iniciávamos a transição para uma fórmula láctea ou leite integral, acrescentando 1 refeição à base de leite à cada 2 dias, até o retorno integral da dieta habitual que era consumida antes do episódio diarréico.

5.4 Controle de qualidade

5.4.1 Treinamento do pessoal e monitorização do estudo

As chances para variações significativas sendo introduzidas pelo observador aumentam dramaticamente com o número de observadores envolvidos. Dessa forma, para reduzir a variação observacional, especialmente com a avaliação do estado de hidratação, apenas os pediatras do Centro de Pesquisa Fima Lifshitz foram envolvidos neste estudo, assegurando-se a padronização da avaliação da desidratação e sinais clínicos.

Para reduzir ainda mais a variação observacional, foram tomadas as seguintes medidas:

- calibragem diária das balanças com pesos padronizados;
- revisão diária dos dados de ingestão e perdas pelo investigador;
- avaliação diária do paciente levando-se em consideração a história clínica inicial, o exame físico e estado nutricional;
- confirmação diária do número de identificação do paciente correspondente ao número de tratamento aleatorizado.

5.5 Experiências adversas

Os efeitos adversos que ocorressem durante a investigação eram documentadas na ficha do paciente (ANEXO 3). Como efeito adverso considerou-se qualquer imprevisto clínico evidenciado pelos sinais, sintomas e/ou dados laboratoriais que ocorressem em qualquer fase do estudo. Isto incluía exacerbação de condições ou eventos pré-existentes, doenças intercorrentes, resposta clínica, manifestação alérgica ou a piora significativa da doença sob investigação que não foi registrada nas fichas clínicas pré-formuladas para avaliar eficácia específica. Avaliação clínica de intercorrências sobre condições pré-existentes, incluindo a doença em estudo, que não foi clinicamente significante, não foi considerada experiência adversa.

5.6 Definições

5.6.1 Admissão

Período compreendido entre a chegada do paciente e a avaliação dos critérios do preenchimento dos requisitos para inclusão no estudo.

5.6.2 Randomização

Momento em que o paciente recebia o primeiro sachê de suplemento dietético (N-ACC ou placebo) de acordo com a lista de aleatorização.

5.6.3 Falha do Tratamento

Foi considerado fracasso do tratamento quando:

- o paciente, após 7 dias de introdução do suplemento dietético randomizado, não apresentou cessação da diarreia;

- o paciente apresentou evidências clínicas de acidose metabólica como: desconforto respiratório sugestivo, na ausência de patologia bronco-pulmonar, náuseas, vômitos e distensão abdominal ou gasometria arterial compatível.

5.6.4 Duração da diarreia

O período de tempo, em horas, da randomização até a última dejeção anormal (fezes líquidas e/ou semilíquidas).

5.6.5 Cessação da diarreia

O momento em que o paciente apresentou um período de 24 horas consecutivas sem nenhuma evacuação líquida ou semilíquida, ou apenas com evacuações pastosas ou

semi-pastosas, ou quando nenhuma evacuação ocorria neste intervalo de tempo, de acordo com critérios da OMS.

5.6.6 Alta do estudo

Foi considerado de alta do estudo o paciente que, após ter apresentado cessação da diarreia, apresentou peso maior ou igual ao peso da randomização ou obteve dois dias consecutivos de ganho ponderal > 20 g/dia.

5.6.7 Alta hospitalar

Os pacientes receberam alta hospitalar após cessação da diarreia, alta do projeto e transição para dieta habitual, mantendo o iogurte como fonte láctea da dieta.

5.6.8 Retirada do estudo

Os pacientes foram retirados do estudo quando seus pais e/ou responsáveis retiravam o consentimento informado livre e esclarecido ou na eventual necessidade de transferência para outra Unidade de tratamento de uma condição específica.

Crianças com diarreia durando mais de 07 dias após introdução do suplemento dietético.

Quando após admissão, o paciente não apresentasse mais nenhuma dejeção líquida ou semilíquida.

5.7 Análise dos resultados

Os dados foram digitados e analisados através do programa SPSS, versão 10.0 para Windows e foram aplicados os seguintes testes:

- O teste de *Kolmogorov-Smirnov* foi aplicado para verificar o comportamento das variáveis contínuas em relação à distribuição gaussiana, considerando a avaliação subjetiva das medidas de tendência central e de dispersão.
- Para comparar médias entre os grupos, em relação às variáveis quantitativas, que apresentaram distribuição normal, foi aplicado o teste *T de Student*.
- Foi utilizado o *Qui-quadrado* (χ^2) para comparar proporções entre os grupos em relação às variáveis dicotômicas.
- *Mann – Whitney* foi aplicado para comparar medianas entre os grupos, em relação às variáveis quantitativas, que não apresentaram distribuição normal.

Em todos os testes foi fixado o valor-p menor ou igual a 0,05 para indicar diferenças estatísticas, ou seja, rejeição da hipótese nula.

A mediana (*Md*), associada aos percentis 25 e 75 (respectivamente, P_{25} e P_{75}), foi utilizada como medida sumarizadora dos dados quando foram aplicados testes não-paramétricos. Média (\bar{x}) e desvio-padrão (DP) foram utilizados para expressar os dados quando testes paramétricos foram aplicados.

Para fins da análise de sobrevivência considerou-se a duração da diarreia como “tempo de sobrevivência” e a cessação da diarreia como “evento falha”. Foi realizada análise de sobrevivência de *Kaplan-Meier* para comparação da duração da diarreia entre os grupos.

6 RESULTADOS

Foram estudados 59 pacientes (29 no grupo tratamento e 29 no grupo placebo), sendo que dois pacientes do grupo placebo e um do grupo tratamento foram excluídos do projeto por não terem apresentado dejeções líquidas ou semi-líquidas após admissão. Um paciente do grupo tratamento foi excluído por apresentar alterações clínicas necessitando de conduta diferenciada com troca de fórmula dietética. Dessa forma, foram incluídos na análise 55 pacientes.

Dos 55 pacientes estudados 28 foram randomizados para o grupo tratamento e 27 para o grupo placebo. A amostra foi composta por 65% de crianças do sexo masculino. No grupo tratamento o sexo masculino representou 57,1% da amostra enquanto que no grupo placebo esta proporção foi maior (74%). Os grupos foram comparáveis em relação à distribuição por sexo assumindo um nível de significância de 5% (Teste χ^2 ; $p = 0,18$).

Nenhum paciente foi a óbito ou apresentou efeitos adversos durante a permanência no estudo.

As características admissionais dos pacientes dos dois grupos foram semelhantes, ao nível de significância de 5,0% (TABELAS 1, 2, e 3).

Quanto ao tempo de duração do episódio antes da admissão hospitalar, a duração média foi de 21,5 ($\pm 11,05$ DP) dias não tendo ocorrido diferença entre os grupos ao nível de significância de 5,0% (Teste *T-student*; $p = 0,27$). O número de evacuações nas 24 horas que antecederam a admissão hospitalar foi de 6,46 ($\pm 2,90$ DP), sendo muito semelhante ($p = 0,92$) entre os grupos estudados.

Do total de pacientes estudados, apenas 25,4% estavam desidratados no momento da admissão. Todos apresentavam desidratação leve à moderada, não tendo havido nenhum paciente com desidratação grave. A distribuição das proporções de pacientes com e sem desidratação foi semelhante entre os grupos estudados assumindo um nível de significância de 5% (Teste *T-student*; $p = 0,53$).

Analisando as informações apresentadas na TABELA 3, verifica-se que os dados laboratoriais admissionais em ambos os grupos de pacientes eram comparáveis. A prevalência de anemia foi elevada (83,6%) e comparável entre os grupos (85,7% no grupo tratamento e 84,6 % no grupo placebo) ao nível de significância de 5% (Teste χ^2 ; $p = 0,67$). Presença de substâncias redutoras e alteração do pH nas fezes não foram encontradas em nenhum dos pacientes avaliados.

De acordo com distribuição dos pacientes por faixa etária, observou-se que a proporção de lactentes menores de 6 meses (42,8% no grupo tratamento e 29,6% no grupo placebo) foi semelhante entre os grupos ao nível de significância de 5% (Teste χ^2 ; $p = 0,30$). Os grupos foram semelhantes também em relação à proporção de lactentes em regime de aleitamento materno (32,1% no grupo tratamento e 29,6% no grupo placebo), ao nível de significância de 5% (Teste χ^2 ; $p = 0,84$). Contudo a mediana de leite materno consumido foi pequena (27,6 g/kg no grupo tratamento e 28,4 g/kg no grupo controle) e semelhante entre os grupos (Teste Mann-Whitney U/ $p = 0,80$).

Com relação à prática do aleitamento materno durante o episódio diarréico (Tabela 4), 30,9% das crianças do estudo (32,3% no grupo tratamento e 29,6% no grupo placebo) estavam consumindo leite materno, sendo esta proporção semelhante entre os grupos ao nível de significância de 5% (Teste χ^2 ; $p = 0,45$). Todas as crianças (100%) mantiveram o aleitamento materno durante o episódio diarréico. A avaliação do comportamento materno em relação ao manejo dietético adotado durante o episódio diarréico (Tabela 4), revela que houve uma baixa proporção de mudanças, tanto no padrão de consumo de leite de vaca (75,0% e 89,9% de manutenção do consumo nos grupos tratamento e placebo respectivamente), quanto no consumo de alimentos semi-sólidos ou sólidos (60,7% de crianças no grupo tratamento e 48,1 % no grupo placebo). Assumindo um nível de significância de 5% (Teste χ^2 ; $p = 0,18$) os grupos foram semelhantes com relação ao consumo de leite de vaca e de alimentos semi-sólidos.

A caracterização do estado nutricional das crianças, segundo o indicador peso/estatura, à admissão e na alta do projeto, está apresentada no Gráfico 1. Os grupos foram nutricionalmente comparáveis. A prevalência de desnutrição energético-protéica, para o total da população estudada, segundo esse indicador, foi de 50,9%. Estado de

eutrofia estava presente em 49,1% das crianças, segundo o indicador peso/estatura, no momento da admissão no projeto.

As médias de ingestão de iogurte, de soro, de leite materno e água foram semelhantes entre os grupos (Tabela 5).

As taxas calóricas médias ingeridas durante período de internamento foram semelhantes entre os grupos (108,9 kcal/kg no grupo tratamento e 95,36 kcal/kg no grupo placebo), ao nível de significância de 5% (Teste *T- student*; $p = 0,21$). A proporção de crianças que necessitaram de passagem de sonda nasogátrica para garantir uma ingestão energética adequada (7,14% no grupo tratamento e 11,1 % no grupo placebo) também foi semelhante entre os grupos (Teste *T- student*; $p = 0,61$).

A mediana de duração da diarreia e a perda fecal total/kg média foram diferentes entre os grupos (Tabela 6). Foi observada uma importante diferença nas medianas de duração da diarreia (30,08 horas) para o grupo tratamento e (45,75 horas) para o grupo placebo, não sendo esta diferença estatisticamente significativa ao nível de significância de 5,0% (Teste *Mann – Whitney*; $p=0,07$). Em relação ao tempo de duração do internamento, o impacto foi ainda maior quando comparamos o grupo tratamento (48,00 horas) com o grupo placebo (96,00 horas), sendo observado um tempo de permanência na enfermaria, duas vezes maior para o grupo placebo, porém essa diferença não foi estatisticamente significativa ao nível de significância de 5,0% (Teste *Mann – Whitney*; $p=0,32$). A mediana de perdas fecais também evidenciou um menor volume de perdas no grupo tratamento (9,68 g/kg) quando comparado com o grupo placebo (26,73 g/kg), o que equivale a uma redução na perda fecal de aproximadamente 63,7% para o primeiro grupo. Essa diferença não apresentou significância estatística ao nível de significância de 5,0% (Teste *Mann – Whitney*; $p=0,28$).

A mediana de perda por vômitos (24, 75 g/kg no grupo tratamento e 31,22 g/kg no grupo placebo) foi semelhante entre os grupos ao nível de significância de 5,0% (Teste *Mann-Whitney*; $p = 0,10$).

Apenas 3,6% (01 paciente do grupo tratamento e 01 paciente do grupo placebo) dos pacientes necessitaram de hidratação venosa, no decorrer do estudo, não tendo havido diferença significativa entre os grupos para essa variável ($p = 0,14$).

Quanto ao perfil etiológico da diarreia persistente na população estudada, em 47% dos casos foi possível a identificação de algum agente enteropatogênico. A identificação de mais de um patógeno aconteceu em 5,4 % dos casos.

A pesquisa de Rotavírus resultou positiva em 23,6% dos casos (28,6% no grupo tratamento e 38,5% no grupo placebo), não tendo havido diferença significativa entre os percentuais de positividade dos grupos estudados (Teste χ^2 ; $p = 0,43$). Também em relação aos percentuais de positividade das coproculturas não houve diferença significativa entre os grupos (Teste χ^2 ; $p = 0,73$). O percentual de isolamento de bactérias patogênicas na população avaliada foi de 3,6 %.

O isolamento de parasitas foi positivo em 18, 2% dos casos avaliados, não tendo havido diferença significativa de positividade entre os grupos estudados (Teste χ^2 , $p = 0,37$). Considerando o universo total dos 55 pacientes avaliados, obtivemos as seguintes prevalências de parasitas: 5,4% de *Giardia lamblia*; 3,6% de *Ascaris lumbricoides*; 1,8% de *Trichocephalus trichiurus* e 1,8 % de *Estrongilóides*. Em apenas cinco pacientes (5,4%) o parasitológico foi positivo para mais de um agente. A distribuição desses agentes entre os grupos estudados foi semelhante (Teste χ^2 ; $p=0,68$).

Em nenhum dos pacientes estudados foi detectado HIV em exame específico para esta doença.

TABELA 1 – Características admissionais dos pacientes de acordo com grupo de tratamento, CPPHO –UFBA, 2004-2007.

| | Grupo Tratamento n= 28 | | Grupo Placebo n=27 | | P* valor |
|----------------------------------------------------|---------------------------|------|-----------------------|-------|----------|
| | χ | DP | χ | DP | |
| Idade (meses) | 10,84 | 7,52 | 11,63 | 7,87 | 0,70 |
| Duração da Diarréia antes da admissão(dias) | 19,86 | 7,30 | 23,15 | 13,88 | 0,27 |
| Número de dejeções 24hs antes da admissão | 6,50 | 2,90 | 6,42 | 2,96 | 0,92 |
| Idade do desmame (meses) ** | 1,94 | 1,35 | 3,58 | 3,93 | 0,10 |

* Teste *T de Student*

** n = 17 crianças ainda mamavam

TABELA 2 – Dados da anamnese admissional dos pacientes estudados, segundo grupo de tratamento, CPPHO –UFBA, 2004-2007.

| | Grupo Tratamento n = 28 | | Grupo Placebo n = 27 | | P* valor |
|-----------------------------------|----------------------------|-------|-------------------------|------|----------|
| | n | % | n | % | |
| Relato de Sangue nas fezes | 08 | 32,0 | 10 | 37,0 | 0,70 |
| Relato de Vômitos | 16 | 57,1 | 15 | 55,5 | 0,90 |
| Relato de Febre | 20 | 71,4 | 14 | 51,8 | 0,13 |
| Episódios Prévios de DP | 04 | 15,38 | 00 | 0,0 | 0,05 |
| Água filtrada ou fervida | 23 | 82,1 | 19 | 70,3 | 0,30 |
| Em uso de dieta c/ lactose | 26 | 92,85 | 25 | 92,5 | 0,97 |

* Não houve diferença entre os grupos utilizando o teste χ^2 para avaliação das diferenças entre as proporções, assumindo um $p < 0,05$.

TABELA 3 - Dados laboratoriais admissionais das crianças estudadas por grupo de tratamento, CPPHO –UFBA, 2004-2007.

| | Grupo Tratamento n = 28 | | Grupo Placebo n = 27 | | P* valor |
|--------------------------------|----------------------------|------|-------------------------|------|----------|
| | χ | DP | χ | DP | |
| Cloro sérico (mEq/l) | 106,62 | 4,43 | 106,86 | 4,41 | 0,84 |
| Sódio sérico (mEq/l) | 138,33 | 4,07 | 138,64 | 2,99 | 0,76 |
| Potássio sérico (mEq/l) | 04,38 | 0,97 | 04,52 | 0,62 | 0,47 |
| Hematócrito (%) | 30,72 | 2,08 | 31,81 | 3,88 | 0,91 |
| Hemoglobina (g/dl) | 10,01 | 0,77 | 10,23 | 1,38 | 0,47 |
| Albumina (g/dl) | 03,54 | 0,64 | 03,46 | 0,70 | 0,68 |

* Não houve diferença entre os grupos utilizando o teste *T de Student*, assumindo um $p < 0,05$.

TABELA 4 - Práticas alimentares domiciliares adotadas, segundo o grupo de tratamento, CPPHO-UFBA, 2004-2007.

| | Grupo Tratamento n = 28 | | Grupo Placebo n = 27 | | P* valor |
|---------------------------------------------|----------------------------|------|-------------------------|------|----------|
| | n | % | n | % | |
| Manutenção do leite de vaca | 21 | 75,0 | 24 | 88,9 | 0,18 |
| Manutenção de alimentos semi-sólidos | 17 | 60,7 | 13 | 48,1 | 0,34 |
| Manutenção do leite materno | 09 | 32,3 | 08 | 29,6 | 0,45 |

* Não houve diferença entre os grupos utilizando o teste χ^2 para avaliação das diferenças de proporções assumindo um $p < 0,05$.

TABELA 5 - Ingestão de fórmula, leite materno, SRO e água, segundo o grupo de tratamento, CPPHO-UFBA, 2004-2007.

| | Grupo Tratamento n = 28 | | Grupo Placebo n = 27 | | P* valor |
|----------------------------------------|----------------------------|-------|-------------------------|-------|----------|
| | χ | DP | χ | DP | |
| Fórmula total g/kg/dia | 126,48 | 36,63 | 118,68 | 52,67 | 0,53 |
| ** Leite materno total g/kg/dia | 6,36 | 14,84 | 6,96 | 14,85 | 0,34 |
| SRO total g/kg/dia | 12,29 | 14,59 | 13,83 | 19,94 | 0,74 |
| Água total g/kg/dia | 20,26 | 09,05 | 21,54 | 10,24 | 0,88 |

* Não houve diferença entre os grupos utilizando o teste *T de Student*, assumindo um $p < 0,05$.

** n = 17 crianças

TABELA 6 - Curso clínico da doença, segundo o grupo de tratamento, CPPHO-UFBA, 2004-2007.

| | Grupo Tratamento n = 28 | | | Grupo Placebo n = 27 | | | P* valor |
|----------------------------|----------------------------|-------|-----------------|-------------------------|--------|-----------------|-------------|
| | P ₂₅ | Md | P ₇₅ | P ₂₅ | Md | P ₇₅ | |
| Duração da diarreia(h) | 24,00 | 30,08 | 78,85 | 23,25 | 45,75 | 81,50 | 0,07 |
| Duração do internamento(h) | 48,00 | 48,00 | 96,00 | 72,00 | 96,00 | 144,00 | 0,32 |
| Perda fecal total (g) | 03,00 | 78,50 | 616,75 | 7,00 | 173,00 | 602,00 | 0,86 |
| Perda fecal total (g/kg) | 0,43 | 9,68 | 112,19 | 1,27 | 26,73 | 57,11 | 0,28 |

* Não houve diferença entre os grupos utilizando o teste χ^2 , para um $p < 0,05$

Gráfico 1- Estado nutricional dos pacientes, na admissão e na alta do estudo, segundo a média do z-score de Peso para Altura (P/A) por grupo de tratamento.

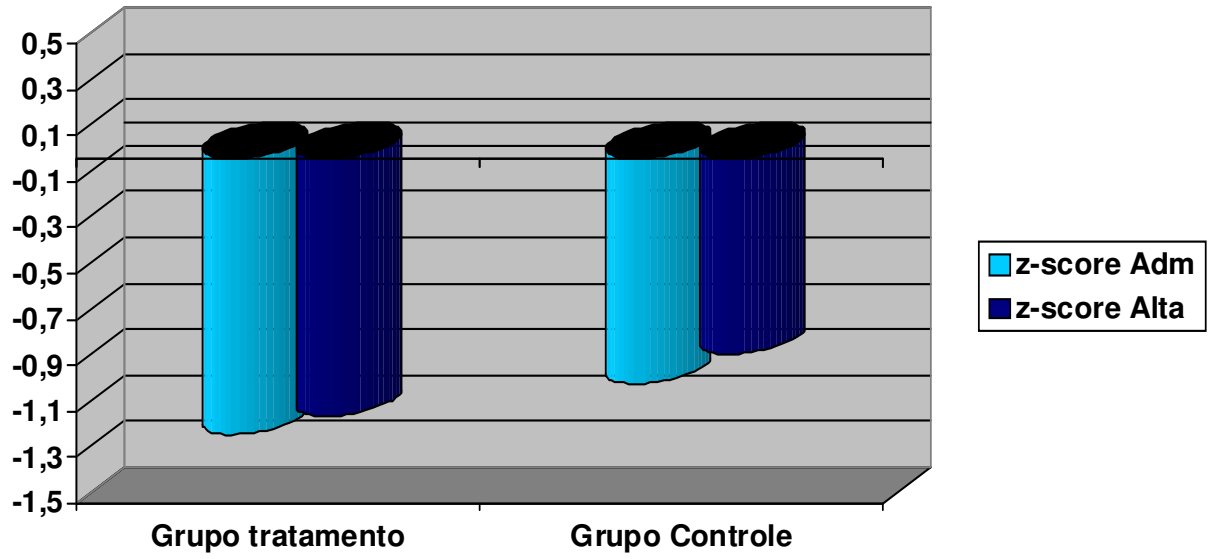
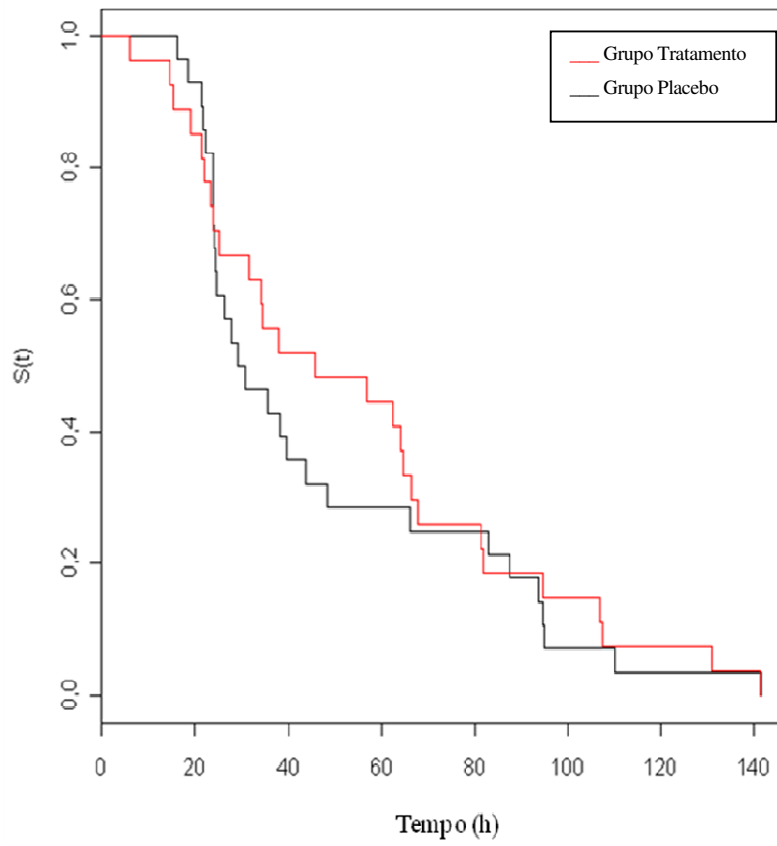


Figura 1. Análise de sobrevivência – Kaplan-Meier , da duração da diarreia por grupo de tratamento.



($p= 0,70$)

7. DISCUSSÃO

Por se tratar de uma doença universal que atinge as pessoas de todas as classes sociais, e dada a relevância do impacto da diarreia persistente sobre a mortalidade em crianças, principalmente em menores de 5 anos, é fundamental que sejam conduzidos estudos enfocando medidas preventivas e terapêuticas capazes de promover uma redução na sua morbiletalidade.

Muitos trabalhos já evidenciam a relação da diarreia com fatores sócio-econômicos e demográficos tanto na ocorrência do episódio diarreico quanto na sua evolução clínica (BHATNAGAR, 1996; ALAM, 2000). E vários estudos citam a importância das condições ambientais em relação ao risco de adoecer por diarreia. Os achados sugerem que higiene inadequada pode aumentar a exposição da criança a múltiplos patógenos entéricos (VICTORA, 1988; KARIM, 2001). A disponibilidade da água encanada apresenta intrínseca relação com o controle da doença diarreica, reduzindo não só os índices de diarreia mais grave, como suas taxas de incidência. A sua presença torna possível a adequada higiene pessoal, doméstica e dos alimentos, sem o que não se pode interromper o ciclo de transmissão orofecal dos patógenos envolvidos na gênese da doença diarreica infecciosa. O uso de água filtrada ou fervida pelas famílias das crianças hospitalizadas neste estudo foi relatado por 76,4% das mães e/ou cuidadoras entrevistadas. Este dado pode também estar relacionado à baixa ocorrência de episódios prévios de diarreia na população deste estudo (7,8%), que atua como um importante fator de risco para o surgimento de diarreia persistente.

Apesar de todos os avanços observados, desde a década de 80, com o advento da Terapia de Reposição Oral (TRO) e com o esforço da OMS/OPAS/UNICEF, no sentido de ampliar os conhecimentos sobre o manejo adequado de casos ao nível de serviços de saúde e da comunidade ainda convivemos com inúmeras deficiências do sistema de saúde que dificultam a consolidação das práticas propostas. Porém alguns avanços já são notados no que concerne às práticas domiciliares no manejo da diarreia. Neste estudo, 74,5% das crianças que chegaram ao PA estavam hidratadas, não necessitando de TRO.

Novos e importantes conhecimentos têm sido agregados às recomendações atuais para o tratamento dos episódios diarréicos, com intuito de otimizar a recuperação do paciente, tornando-a mais eficiente e com menor comprometimento do estado nutricional. Nesse sentido a OMS recomenda que a terapia dietética apresente características apropriadas para a idade, com limitado conteúdo de lactose (leite de vaca), inclua suplementação polivitamínica e de minerais, mantendo um fracionamento aumentado (pelo menos 6 refeições diárias) com predileção pelo aleitamento materno, caso este esteja presente (WHO, 1996).

A manutenção da dieta adequada para a idade durante o episódio diarréico já foi amplamente discutida. A suspensão da alimentação na fase aguda do episódio diarréico é um dos fatores de risco para a sua persistência e aumento do risco de morte por diarreia. O uso da dieta habitual, quando comparada à pausa alimentar, não acarreta aumento das perdas fecais e promove melhora no balanço energético e nutricional das crianças (BROWN et al., 1988). Neste estudo observou-se uma baixa proporção de modificações no hábito alimentar das crianças com manutenção do consumo de alimentos que faziam parte do hábito anterior ao episódio diarréico. Este achado pode ser associado também ao reduzido número de pacientes moderadamente desidratados (25%).

Dentre todos os fatores relacionados às práticas alimentares enquanto mecanismo de prevenção da ocorrência da diarreia persistente, a manutenção do aleitamento materno é sem sombra de dúvidas o que oferece maior impacto positivo na redução da morbidade e mortalidade. Esta relação pode ser explicada pelas propriedades antimicrobianas e imunológicas inerentes a sua composição, devendo também ser considerada a sua capacidade de garantir o adequado estado nutricional do lactente, assim como a isenção de contaminação quando o seu uso é exclusivo (GRACEY, 1999). O desmame precoce e a introdução inadequada dos alimentos de transição tanto no que se refere à oferta calórica, quanto ao preparo dos alimentos, favorecem a instalação de déficits nutricionais e a exposição aos enteropatógenos potenciais (PINTO et al., 1988). Essa associação tem sido freqüentemente demonstrada por diferentes pesquisadores em várias regiões do mundo (BHANDARI et al., 2000). Na amostra estudada a proporção de crianças aleitadas ao seio foi baixa 34,5%, com uma idade média de desmame considerada alta em nosso país (1,9 meses no grupo tratamento e 3,5 meses no grupo placebo), estando aquém das metas recomendadas pela OMS e Fundo das Nações

Unidas para Infância, que preconizam o uso do leite materno nos 6 primeiros meses de vida (SILVA, 2004).

O estado nutricional da criança durante o episódio infeccioso agudo tem sido apontado como um dos principais fatores de risco para o prolongamento da diarreia (GONZALEZ, 1995; LIMA, 2000). A prevalência de desnutrição à admissão no estudo, de acordo com o indicador peso/altura, para o total da população estudada foi bastante elevada (50,9%). A particularidade dos dados em estudo pode ser atribuída à presença da infecção diarreica persistente e ao impacto negativo que esta traz ao estado nutricional. O prolongamento do processo diarreico está intimamente relacionado com alterações significativas no funcionamento gastrointestinal, devido à agressão a mucosa da aborça em escova do enterócito, alterando sua morfologia (WHO, 1988; ANDRADE, 2000). Essa estrutura é fundamental no processo absorptivo por abrigar os sistemas enzimáticos responsáveis pela degradação de carboidratos e proteínas. A má absorção dos diversos nutrientes, que se instala leva a um agravamento do estado nutricional e atua também como um fator perpetuador do episódio diarreico relacionado à falta de regeneração da mucosa intestinal.

O manejo nutricional de pacientes com diarreia persistente, já está bem estabelecido, e as recomendações atuais para a alimentação destes pacientes privilegia a manutenção de uma dieta de baixo custo, com alimentos regionais, associada a pequenas quantidades de leite e ou derivados. Um estudo multicêntrico, coordenado pela OMS, realizado na Índia, Bangladesh, Paquistão, Vietnam, México e Peru, que utilizou alimentos regionais associados à leite ou iogurte com teores reduzidos de lactose, uma taxa de sucesso que variou de 65% a 89% foi encontrada, entre os diversos países. Como conclusão, a OMS recomenda que o algoritmo utilizado, com base em dietas locais, possa ser uma alternativa às fórmulas especializadas (WHO, 1996).

Apesar de haver uma associação bem estabelecida entre a diarreia persistente e deficiência transitória de lactase (LIFSHITZ, 1971), nenhum paciente apresentou alterações laboratoriais ou clínicas sugestivas de intolerância aos componentes do iogurte. Dessa forma não foi necessária a mudança do iogurte utilizado como fonte exclusiva de alimento durante a permanência no estudo. Alguns autores avaliaram diferentes derivados do leite de vaca (BHUTA, 1996; BALESTER, 2002) e consideraram o leite

fermentado ou iogurte uma opção a ser considerada nos casos de diarreia persistente. O processo de fermentação aumenta a digestibilidade da lactose devido à presença da galactosidase existente no iogurte e, além disto, a modificação do conteúdo protéico do leite torna-o mais facilmente digerível. Estas características atribuídas ao iogurte podem ter sido responsáveis pela não ocorrência de intolerância à lactose nos pacientes do presente estudo.

A prevalência de anemia na população estudada foi bastante elevada (83,6%), em especial entre os pacientes desnutridos (89,2%). Estes dados são superiores aos observados anteriormente na população de Salvador-BA, onde foi encontrada uma prevalência de 64,7% de anemia, no ano de 1996 (ASSIS, 2000). Porém são semelhantes a outros estudos anteriores envolvendo lactentes com diarreia aguda e persistente acompanhados pela equipe do Centro de Pesquisa Fima Lifshitz (VALOIS, 2003)

Apesar dos indicadores nutricionais desfavoráveis, os dados revelam uma evolução ponderal satisfatória em ambos os grupos de estudo, com aumento da prevalência de eutrofia até o final da internação. Ao compararmos a avaliação nutricional da admissão e da alta, observamos que houve uma melhora nas médias do índice peso/altura, em relação ao z-score, que na admissão era -1,09 e na alta - 0,9. A recuperação nutricional observada revela o quão fundamental é uma abordagem nutricional, interrompendo o ciclo diarreia-desnutrição. No gráfico 1 podemos observar essa melhora do estado nutricional que aconteceu nos grupos estudados. A assistência multiprofissional e individualizada ao paciente durante toda a internação, bem como a adoção de condutas padronizadas de terapia nutricional podem ter contribuído para estes achados.

Ao analisarmos as características da população estudada, podemos concluir que a mesma se configurou numa população de pacientes com diarreia persistente leve e moderada, já que as principais variáveis que, classicamente, são reconhecidas por conferirem maior gravidade aos casos como: desidratação, infecções bacterianas associadas, desnutrição moderada/grave ($z\text{-score} < -2$), idade < 6 meses e ocorrência de episódios prévios de diarreia persistente, estiveram presentes numa proporção pequena dos pacientes estudados, tendo sido, respectivamente, 25,4%; 3,6%; 21,8% ; 36,3% e 7,3%.

Sabe-se que em situações de agressões à mucosa intestinal, como na doença diarreica, há uma maior demanda de nutrientes para que ocorra um adequado restabelecimento de suas atividades digestivas e absorptivas, sendo de fundamental importância a provisão de fatores tróficos de crescimento.

Dessa forma evidencia-se a íntima relação entre o manejo dietético e o estado nutricional do indivíduo. A prática de restabelecimento imediato da alimentação para os pacientes com diarreia, conforme preconizado pela OMS/OPAS possibilita o fornecimento de uma gama de nutrientes, que potencialmente favorecem a manutenção da integridade da mucosa intestinal. Além disso, a instituição de uma dieta com baixo conteúdo de lactose diminui a sobrecarga desse carboidrato na mucosa intestinal e, conseqüentemente, atenua o componente osmolar do episódio diarreico.

Associado a este efeito, o iogurte é considerado como um alimento probiótico sendo-lhe conferidas ações como: balanceamento da flora intestinal, aumento da tolerância e da digestão da lactose, atividade anticarcinogênica, modulação do sistema imunológico, principalmente em crianças, auxiliando no tratamento da diarreia (SILVA, 2000). Assim, conclui-se que a terapia nutricional precoce, com conseqüente manutenção e/ou melhora do estado nutricional, como observado nos pacientes estudados, pode ter favorecido por si só a redução na duração do episódio diarreico além do seu curso natural em ambos os grupos.

Apesar das evidências, já relatadas na literatura sobre o fator protetor do aleitamento materno sobre o tempo de duração e número dos episódios diarreicos, não foi observada diferença com significância estatística entre os grupos estudados no que diz respeito ao estado nutricional e a duração da diarreia nas crianças que ainda mamavam ao seio e as desmamadas.

O comprometimento do estado nutricional do indivíduo através da redução na ingestão dietética e da absorção intestinal aumentando o catabolismo e o desvio de nutrientes que são requeridos para a síntese de tecidos, células e crescimento, é característico da diarreia persistente. Isto traz ainda como conseqüência uma interferência no aporte de nutrientes essenciais para a manutenção do sistema de defesa antioxidante. Recentes trabalhos têm discutido sobre a participação do stress oxidativo caracterizado pela depleção das defesas antioxidantes do organismo, sobre as alterações

metabólicas ocorridas na vigência de um episódio de diarreia persistente (GRANOT et al., 2001; GRANOT et al., 2004).

Apesar das discussões, não existe até o momento, nenhuma evidência científica sobre o uso de agentes antioxidantes e seus efeitos sobre a diarreia persistente. Em nosso trabalho, não foi evidenciada diferença estatisticamente significativa na duração da diarreia ou na duração do internamento, apesar destas terem sido menores para as crianças que utilizaram a NAC. O mesmo ocorreu com a variável perda fecal. No entanto, houve um importante impacto clínico no que diz respeito a redução na duração do episódio diarreico significativamente maior que o esperado para realização do cálculo amostral (34%) e uma perda fecal 54,6% menor entre as crianças que fizeram uso da NAC quando comparadas com as que utilizaram o placebo. O tempo de internamento também apresentou uma queda brusca de 50% para os pacientes que fizeram uso da NAC. Estes resultados têm uma significativa relevância clínica uma vez que, a redução da duração do episódio diarreico leva a um menor tempo de internamento dos pacientes, com conseqüente redução dos custos hospitalares (material, medicação etc.) e maior otimização na utilização dos leitos.

Estudos já demonstraram que o tempo de internamento prolongado favorece a instalação de sérios déficits nutricionais além de aumentar a possibilidade de infecção hospitalar. No Brasil, as crianças internadas em hospitais públicos frequentemente apresentam evolução nutricional insatisfatória, com perda ponderal significativa (WAITZBERG; CAIAFFA; CORREIA, 2001; MOURA et al., 2001; ABREU et al., 2004) . Isto é evidenciado pela relação direta entre tempo de internação e maior prevalência de desnutrição. Para uma parcela dos pacientes, a ocorrência de desnutrição durante a internação é atribuída à gravidade da doença de base. Dessa forma, novas possibilidades terapêuticas no manejo dietético que favoreçam a redução do tempo de internamento, principalmente em crianças, poderão acarretar também uma queda na morbimortalidade com redução do impacto do internamento sobre o estado nutricional destas crianças.

Por isso, entendemos que esse estudo aponta para um possível efeito positivo da suplementação dietética com esse antioxidante, sendo necessários que novos ensaios clínicos sejam realizados, nas mesmas condições de controle, e em crianças com diarreia persistente

8. CONCLUSÃO

Foi observado um impacto significativo, do ponto de vista clínico, na duração da diarreia e na taxa de perda fecal das crianças que utilizaram dieta com adição de NAC em comparação àquelas que utilizaram a dieta com o placebo, porém este não foi estatisticamente significativo.

A suplementação de NAC ao iogurte utilizado na alimentação não proporcionou melhora no desempenho nutricional dos pacientes, sendo comparável com aqueles que utilizaram iogurte com adição do placebo.

Novos estudos devem ser realizados com pacientes com diarreia persistente e em pacientes desnutridos, para melhor identificação do possível papel trófico de uma exposição mais prolongada com agentes antioxidantes sobre a mucosa intestinal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, S. M. et al. Evolução nutricional de crianças internadas nas unidades de clínica e cirurgia pediátrica de hospital público. **Rev Paul Pediatr**, v. 22, p. 221-20. 2004.

ALAM, S.; MALIK, A. Outcomes of cases of persistent diarrhea after discharge. **Indian J Pediatr**, v. 67, p. 34-6. 2000.

ANDRADE, J. A. B. ; Gomes T. A. T. ; NETO, U. F. Letalidade em lactentes com diarréia persistente : fatores de risco associados ao óbito. **Arq Gastroenterol**, v.35, n. 1, p.62-8.1998.

ANDRADE, J. A. B. ; MOREIRA, C. ; NETO, U. F. Diarréia persistente. **J Padiatr**, Rio de Janeiro, v.76, p. 119-26. 2000. Suplemento.

ASSIS, A.M.O. Condições de vida, saúde e nutrição na infância em Salvador. Brasília : INAN, Salvador : UFBA/Escola de Nutrição/Instituto de Saúde Coletiva, p. 22-24. 2000.

ATKURI, K.R. ; MANTOVANI, J.J. ; HERZENBERG, L.A. ; HERZENBERG, L.A. N-acetylcysteine- a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. **Curr Opin Pharmacol**, v.7, p. 1-5. 2007.

AW, T.W. ; TSUNADA, S. Persistent subtoxic lipid peroxide challenge in vivo causes thiol redox imbalance and redox imbalance and cytoxicity in rat intestine. **FASEB J**, n. 11, p 211-9. 1997.

AW, T.W. Molecular and cellular responses to oxidative stress and changes in oxidation-reduction imbalance in the intestine. **Am J Clin Nutr** , n. 70, p. 557-65. 1999.

AW, T.W. Molecular and cellular responses to peroxide-induced oxidative stress and redox imbalance in the intestine. **Oxidative Stress**, p. 1-12. 2001.

BADALOO, A. Cysteine supplementation improves the erythrocyte glutathione synthesis rate in children with severe edematous malnutrition. **Am J Clin Nutr**, n. 76, p. 646-52. 2002.

BALLESTER, D.; ESCOBAR, A. M. U.; GRISI, S. J. F. E. Diarréia persistente: revisão dos principais aspectos fisiopatogênicos, fatores de risco e implicações terapêuticas. **Pediatria**, São Paulo, n.24, v. 3, p. 112-21. 2002.

BALLESTER, D; ESCOBAR, A. M. U; GRISI, S. J. F. E. Tratamento não intervencionista da diarréia persistente. **Pediatria**, São Paulo, n. 25, v.3, p. 91-100. 2003.

BARDHAN, P. K. et al. Small bowel and fecal microbiology in children suffering persistent diarrhea in Bangladesh. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, n.26, p. 9-15. 1998.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M. Stress oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesas do organismo. **Quim Nova**, n. 29, v. 1, p. 113-23. 2006.

BENICIO, M.H.A.; MONTEIRO, C.A. Tendência secular da doença diarreica na infância na cidade de São Paulo (1984-1996). **Rev Saúde Pública**, v.34, n.6, p :83-90, Dec. 2000. Suplemento.

BERN, C. et al. The magnitude of the global problem of diarrhoeal disease : ten-year update. **Bull World Health Organ**, v.70, p 705-14. 1992.

BIANCHI, M. L. P; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev Nutr**, n.12, v. 2, p. 123-30. 1999.

BHANDARI, M. K. et al. Descriptive epidemiology of persistent diarrhea among young children in rural northern India. **Bull World Health Organ**, n.67, p.281-8. 1989.

BHANDARI, N. et al. Prognostic factors for persistent diarrhoea managed in a community setting. **Indian J Pediatr**, n.67, p. 739-45. 2000.

BHATNAGAR, S. et al. Prognostic factors in hospitalized children with persistent diarrhea: implications for diet therapy. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** , n.23, p. 151-8. 1996.

BHUTTA, Z.A.; HENDRICKS, K. M. Nutritional management of persistent diarrhea in Childhood: a prospective from the developing world. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, n.22, p.33-7. 1996.

BHUTTA, Z. A. et al. Persistent and Chronic diarrhea and malabsorption: Working Group Report of Second World Congress of Pediatric, Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, n.39, v.2, p. S716-26. 2004.

BLACK R. E.; BROWN, K. H. ; BECKER, S. Effects of diarrhea associated with specific enteropathogenes on the growth of children in rural Bangladesh. **Pediatrics**, v.73, p. 799-805, 1984.

BLACK, R. E. et al. Incidence and etiology of infantile diarrhea and major routes of transmission in Huascar, Peru. **Am J Epidemiol**, n. 129, p. 785-99. 1989.

BLACK, R. E. Persistent diarrhea in children of developing countries. **Pediatr Infect Dis J**, n.12, p. 751-61. 1993.

FAGUNDES-NETO, U. et al. Protracted diarrhea: the importance of the *E.coli* (EPEC) strains and *Salmonella* in its genesis. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** , n. 8, p. 207-11. 1989.

FAGUNDES-NETO, U. et al. Nutritional impact and ultrastructural intestinal alterations in severe infections due to enteropathogenic *Escherichia coli* strains in infants. **J Am Coll Nutr**, n.2, p. 180-5. 1996.

FALBO, A.R.; ALVES, J.G.B. Desnutrição Grave: alguns aspectos clínicos e epidemiológicos de crianças hospitalizadas no Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP), Brasil. **Cad Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 18, n.5, p.1473-77, set. 2002.

FANG, G. D. et al. Etiology and epidemiology of persistent diarrhea in Northeastern Brazil: a hospital-based prospective case-control study. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, n. 21, p 137-44. 1995.

FAVILLI, F. et al. Effect of orally administered glutathione on glutathione levels in some organs of rats: role of specific transporters. **Br J Nutr**, n. 78, p. 293-300. 1997.

FECHNER, A. et al. Antioxidant Status and Nitric Oxide in the Malnutrition Syndrome Kwashiorkor. **Pediatr Res**, n. 49, p. 237-43. 2001.

FLANAGAN, R. J.; MEREDITH, T. J. Use of N-acetylcysteine in clinical toxicology. **Am J Med**, n. 91, v. 3C, p. 131-39. 1991. Suplemento.

GARCIA, L.S. et al. Techniques for the recovery and identification of *Cryptosporidium* oocyst from stool specimens. **J Clin Microbiol**, n.18, p. 185-91. 1983.

GEBARA, K. S.; MATIOLO, G. Relação da hiperhomocisteinemia com a doença cardiovascular e a doença de Alzheimer. **Rev Bras Nutr Clin**, n. 2, v.3, p. 239-43. 2006.

GLASS, R. et al. Estimates of morbidity and mortality rates for diarrhoea diseases in american children. **J Pediatr**, v 118,p: s27-33, 1991.

GOLDEN, M.H.N.; RAMDATH, D. Free radicals in the patogenesis of Kwashiorkor. **Proc Nutr Soc**, n. 46, p. 53-68. 1987.

GONZALEZ, E. S. et al. Factores de riesgo para la diarreha persistente. **Rev Gastroenterol Peru**, n.15, p. 231-38. 1995.

GRACEY, M. Nutritional effects and management of diarrhoea in infancy. **Acta Paediatr**, n. 88,p. 110-26. 1999. Suplemento.

GRANOT, E. et al. Oxidative stress is not enhanced in non-malnourished infants with persistent diarrhea. **J Trop Pediatr** , n. 47, p. 284-87. 2001.

GRANOT, E; COHEN, H. Oxidative Stress in childhood – in health and disease states. **Clin Nutr**, n. 23, p. 3-11. 2004.

HAMMERMAN, C. et al. Amelioration of ischemia reperfusion injury in rat intestine by pentoxifylline-mediated inhibition of xantine oxidase. **J Ped Gas Nutr**, n.29, p. 69-74. 1999.

HARA, Y. et al. Oxidative stress and apoptosis in hepatitis C: the core issue. **J Gastroenterol**, n. 41, p. 292-94. 2006.

HAGEN, T. M. et al. Bioavailability of dietary glutathione; effect on plasma concentration. **Am J Physiol**, n.259, p. 524-529. 1990.

HENRY, F. J. et al. Epidemiology of persistent diarrhea and etiologic agents in Mirzapur, Bangladesh. **Acta Paediatr**, n. 381, p. 27-31.1992. Suplemento.

JACKSON, A. A. Blood glutathione in severe malnutrition in childhood. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, n.80, p. 911-3. 1986.

JACKSON, A. A. Glutathione in Kwashiorkor. **Am J Clin Nutr**, n.76, p. 495-6. 2002.

KALLED, M. A. Oxidative stress in childhood malnourished and diarrheal diseases. **J Diarrhoeal Dis Res**, n.12, p. 165-72. 1994.

KARIM, A.S. et al. Risk factors of persistent diarrhea in children below five years of age. **Indian J Gastroenterol**, n. 20, p. 59-61. 2001.

KELLY, G. Clinical Applications of N-acetylcystein. **Med Rev**, n.3, v. 2. P. 114-127. 1998.

KHOSHOO, V.; BHATNAGAR, S.; BHAN, M. K. Monosaccharide intolerance complicating protracted diarrhea in infants. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, n. 9, p. 131-2. 1989.

LANATA C.F. et al. Epidemiologic, clinical and laboratory characteristics of acute vs persistent diarrhea in periurban Lima, Peru. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, n. 12, p. 82-8. 1991.

LIFSHITZ, F. et al. Carbohydrate intolerance in infants with diarrhea. **J Pediatr**, v. 79, p. 760-7. 1971.

LIMA, A.A et al. Persistent diarrhea signal a critical period of increased diarrhea burdens and nutritional shortfalls: a prospective cohort study among children in Northeast Brazil. **J Infect Dis**, n. 18, p. 1643-51. 2000.

LINS, M. G. M.; SILVA, G. A. P. Doença diarreica em crianças hospitalizadas: importância da diarreia persistente. **J Pediatr**, Rio de Janeiro, n. 37, v.1, p. 37-43. 2000.

LINS, M. G. M.; MOTTA, M. E. F. A.; SILVA, G. A. P. Fatores de risco para diarreia persistente em lactentes. **Arq Gastroenterol**, n. 40, p. 239-46. 2003.

LU, S. C. Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies. **FASEB**, n.13, p. 1169-83. 1999.

MACAULIFFE, J.F. et al. Prolonged and recurring diarrhoea in the northeast of Brazil: examination of cases from a community-based study. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, n.5, p. 902-6. 1986.

MANARY, M. J.; LEEUWBURGH, C.; HEINECKE, J. W. Increased oxidative stress in kwashiorkor. **J Pediatr**, n. 137, v.3, p. 421-4. 2000.

MARTORELL, R.; YARBROUGH, C.; KLEIN, R. E. The impact of ordinary illness on the dietary intakes of malnourished children. **Am J Clin Nutr**, n. 33, p. 345-50. 1980.

MBORI-NGACHA, D. A. et al. Prevalence of persistent diarrhoea in children aged 3-36 months at the Kenyatta National Hospital, Nairobi, Kenya. **East African Medical Journal**, n. 72, p. 711-4. 1995.

MENZAL, D. B. Toxicity of air pollution in experimental animals and humans: the role of oxidative stress. **Toxicol Lett**, n. 72, p. 269-77. 1994.

Ministério da Saúde. COMIN – Programa de Assistência à Saúde da Criança. Brasília: COMIN. 1995.

MOURA CAETANO, JR. et al. Fatores associados à internação hospitalar de crianças menores de cinco anos, São Paulo, SP. **Rev Saúde Pública**, n. 36, p. 285-91. 2002.

NATARO, J. P.; KAPER, J. B. Diarrheagenic Escherichia coli. **Clin Microbiol Rev**, n. 11, p. 142-201. 1998.

NCHS (National Center For Health Statistics). Growth curves for children birth-18 years. United States Department of Health, Education and Welfare, Publication, n. 7, 1997.

OPAS/OMS – ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD/ ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD. Nutrición y alimentación del niño en los primeros años de vida. Washington, D.C., E.U.A., OMS/OPAS, p. 163-76, 1997.

ORTOLANI, O. et al. The effect of glutathione and N-acetylcysteine on lipoperoxidative damage in patients with early septic shock. **Am J Respir Crit Care Med**, n. 161, p. 1917-21. 2000.

PINTO, E. A. L. C.; BARROS-FILHO, A. A.; BARROS, M. B. A. Fatores de risco para diarreia persistente em crianças hospitalizadas. **Arq Gastroenterol**, n. 35, p. 126-31. 1998.

PODDA, M. et al. UV-irradiation depletes antioxidants and causes damage in a model of human skin. **Free Rad Biol Med**, n. 92, p. 5258-65. 1998.

PORTAL, B. et al. Effect of double-blind cross-over selenium supplementation on lipid peroxidation markers in cystic fibrosis patients. **Clin Chim Acta**, n. 234, p. 137-46. 1995.

RICE, A. L. et al. Malnutrition as an underlying cause of childhood deaths associated with infectious diseases in developing countries. **Bull World Health Organ**, n. 78, p 1207-21. 2000.

ROSINI, N. et al. Presença de hiperhomocisteinemia em pacientes portadores de três fatores de risco para doença cardiovascular: hipertensão, tabagismo e histórico familiar. **RBAC**, n.38, v. 1, p. 43-5. 2006.

SALEM, S. I. et al. Antioxidant status in children with protein-energy malnutrition (PEM) living in Cairo, Egypt. **Eur J Clin Nutr**, n.52, p. 669-73. 1999.

SARTI, E. S.; TAPIA-CONYER, R.; GUISCAFRÉ, H. Prevalence of persistent diarrhea in México. **Pediatr Infect Dis J**, n. 14, p. 635-6. 1995.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, R. A. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação. **Rev Bras Med Esporte**, n.10, p.308-12. 2004.

SCHORLING, J. B. et al. Malnutrition is associated with increased diarrhoea incidence and duration among children in an urban Brazilian slum. **Int J Epidemiol** , n. 19, p. 728-35. 1990.

SILVA, G. A. P.; LIRA, P. I. C.; LIMA, M. C. Fatores de risco para doença diarréica no lactente: um estudo caso-controlado. *Cad Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 20 (2):589-595, março, 2004.

SILVA, L. L.; SATANFORD, T. L. M. Alimentos Probióticos: uma revisão. **Hig Alim**, n. 14, p. 4150, jan./fev.2000.

SHIH, A.Y. et al. Cystine/Glutamate Exchange Modulates Glutathione Supply for Neuroprotection from Oxidative Stress and Cell Proliferation. **J Neurosci**, n. 26, v. 41, p.100514-23. 2006.

ULSHEN, M. H.; ROLLO, J. L. Pathogenesis of *Escherichia coli* gastroenteritis in man: another mechanism. **N Eng J Med**, n. 302, p. 99-101. 1980.

VALOIS, S. Repercussão do Consumo dos Sucos de maçã e uva verde na evolução clínica de crianças com diarreia aguda. 2003. 96 f. Tese (Mestrado em Medicina) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2003.

VANDERHOOF, J. A. The protracted diarrhea syndrome. In: Balisteri WF, Vanderhoof JA. Using in relation to the risk of infant mortality from diarrhea. *Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. New York: Chapman and Hall, p.123-31.1990.

VANNUCCHI, H. et al. Papel dos nutrientes na peroxidação lipídica e no sistema de defesa antioxidante. **Medicina**, Ribeirão Preto. n. 31, p. 31-44. 1998.

VICTORA, C. G. et al. Water supply, sanitation and housing in relation to the risk of infant mortality from diarrhea. **Int Epidemiol**, n.17, p. 651-4. 1988.

VICTORA, C. G. et al. Deaths due to dysentery, acute and persistent diarrhoea among Brazilian infants. **Acta Paediatr**, n. 381, p. 7-11. 1992.

WAITZBERG, D.L.; CAIAFFA, W.T.; CORREIA, M.I. Hospital malnutrition: The Brazilian national survey (IBRANUTRI): A study of 4000 patients. **Nutrition**, n. 17, p. 573-80. 2001.

WATERLOW, J. C. Nutrición y crecimiento. In: Waterlow, JC. *Malnutrición protéico-energética*. Washington, D.C.: OPS, p. 230-60. 1996.

WESSNER, B.; STRASSER, E.-M.; SPITTLER, A.; ROTH, E Effect of single and combined supply of glutamine, glycine, N-acetylcysteine, and R,S-a-lipoic acid on glutathione content of myelomonocytic cells. **Clin Nutr**, n.22, v. 1, p.512-22. 2003.

WITSCHI, A. et al. The Systemic availability of oral glutathione. **Eur J Clin Pharmacol**, n. 43, p. 667-9. 1992.

WHO (World Health Organization). Diarrhoeal Diseases Control Programme. Persistent diarrhoea in children in development countries. Report of a WHO Meeting. **Bull World Health Organ**, n. 66, p. 709-717. 1988.

_____. Program for the control of diarrhoeal diseases: a manual for the treatment of diarrhoea. **WHO/CDC-project**, p. 1-3. 1992.

_____. Evaluation of an algorithm for the treatment of persistent diarrhea: a multicentre study. **Bull World Health Organ**, n. 74, p. 479-489. 1996.

_____. Global database on child growth and malnutrition. Program of nutrition family and reproductive health. Geneva: WHO, p. 276. 1997

_____. The global burden of diarrhoeal disease as estimated from studies published between 1992 and 2000. **Bull World Health Organ**, n. 81, v. 3, p. 197-204. 2003.

YOLKEN, R. H. et al. Enzyme-Linked immunoabsorbent assay (ELISA) for detection of human rotavirus like agent for infantile gastroenterites. **Lancet**, p. 263-4. 1997.

ZAFARULLAH, M. et al. Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. **Cell Mol Life Sci**, n. 60, p.6-20. 2003.

LISTA DE ANEXOS

- Anexo 1. Aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Professor Edgard Santos – UFBA.
- Anexo 2. Formulário de consentimento livre e esclarecido para participação no estudo
- Anexo 3. Ficha do protocolo de pesquisa para coleta de dados
- Anexo 4. Formulário de anamnese nutricional
- Anexo 5. Folha de controle de perdas fecais
- Anexo 6. Folha de controle de perdas urinárias
- Anexo 7. Ficha de controle de perdas por vômitos
- Anexo 8. Ficha de controle de ingestão de leite materno
- Anexo 9. Ficha de controle de consumo alimentar
- Anexo 10. Ficha para cálculo do balanço nutricional de 24 horas
- Anexo 11. Capa do balanço metabólico dos pacientes admitidos no projeto
- Anexo 12. Folha de evolução da Nutrição para registro da evolução nutricional do paciente na enfermaria
- Anexo 13. Berço Metabólico
- Anexo 14. Oferecimento da dieta do estudo
- Anexo 15. Artigo a ser enviado para publicação

Anexo 1. Aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Professor Edgard Santos – UFBA.



Universidade Federal da Bahia
Hospital Universitário Professor Edgard Santos
 Rua: Augusto Viana s/n - Canela – CEP 40.110.060 - Salvador – Bahia
 Tel: (071) 339-6000 Fax: (071) 339-62228

FORMULÁRIO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Data da Aprovação: **20 de novembro de 2002.**

Título do Protocolo: **"SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM N-ACETYLCYSTEINA EM CRIANÇAS COM DIARREIA PERSISTENTE"**

Nome do Investigador Principal: **Dr. Hugo da Costa Ribeiro Júnior**

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

O Comitê de Bioética em Pesquisa do Hospital Universitário Professor Edgard Santos avaliou o projeto e aprovou-o, constando em ata:

- (x) Protocolo de Estudo Clínico
 (x) Termo de Consentimento Informado

Membros do Comitê de Ética em Pesquisa:

Prof. Ajax M. Atta
 Prof. Álvaro Rabelo Jr.
 Prof. Antonio Natalino Manta Dantas
 Profª. Ana Marlúcia Oliveira Assis
 Prof. José Hamilton Almeida Barros
 Profª. Josicélia Dumet Fernandes
 Sra. Tânia Maria Gonçalves Palma – Rep. da Comunidade

Profª **Maria Theresa de Medeiros Pacheco**
 Presidente do Comitê de Bioética em Pesquisa do HUPES

Anexo 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO DA SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM N-ACETYLCYSTEÍNA EM CRIANÇAS COM DIARRÉIA PERSISTENTE.

Eu, _____ pai e/ou responsável pelo menor _____, voluntariamente dou meu consentimento para participação do meu filho/da minha filha neste estudo controlado do papel da suplementação dietética com N-acetylcisteína na diarréia persistente em crianças.

Eu entendo que o objetivo deste estudo, no qual o meu filho/a minha filha será envolvido, é a avaliação do papel da suplementação dietética com N-acetylcisteína na criança com diarréia persistente. O suplemento dietético será dado além do tratamento nutricional convencional. A suplementação dietética parte da teoria de que a origem da diarréia persistente está relacionado com “stress oxidativo” que acontece na mucosa do intestino da criança, ou seja, um desequilíbrio entre os fatores que protegem a mucosa intestinal e os que a prejudicam. Já foi mostrado em diferentes estudos que substâncias antioxidantes, com a N-acetylcisteína, em crianças com diarréia persistente ajudam a reduzir a duração da enfermidade.

As crianças irão receber cada dia duas doses de N-acetylcisteína. Apesar de amplamente utilizada, em todo o mundo, como coadjuvante no tratamento de infecções respiratórias, fluidificando as secreções pulmonares, a N-acetylcisteína, que é reconhecidamente segura, será aqui utilizada como suplemento dietético e não como remédio.

Para um melhor acompanhamento da evolução clínica da criança, serão colhidas pequenas amostras de sangue e de fezes no dia da admissão e quando se fizer necessário. Para detectar eventuais complicações o mais cedo possível, uma supervisão por médicos e por nutricionistas será realizada durante toda a internação.

Pelo tratamento especial e o acompanhamento mais rigoroso, a criança receberá os cuidados comumente usados nos casos de diarréia persistente. Não há riscos conhecidos para a criança. Se em algum momento a criança necessitar de cuidados especiais que a impossibilite de continuar no estudo, esta será retirada imediatamente e conduzida de acordo com as necessidades clínicas.

Os pais terão total liberdade para, em um dado momento, solicitarem a retirada do estudo, ficando-lhes assegurado o acompanhamento clínico e nutricional.

Eu li e entendi a explicação e agora estou compreendendo totalmente o estudo. Eu também acredito que a participação de minha criança é de grande valor para ela e outras que como ela estejam com diarréia persistente.

Salvador, ____/____/____

Pai ou responsável

Médico Responsável

Anexo 3 – Ficha do protocolo de pesquisa para coleta de dados

ENSAIO CLÍNICO DUPLO-CEGO RANDOMIZADO PARA AVALIAÇÃO DO IMPACTO DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM ACETYLCISTEÍNA EM CRIANÇAS COM DIARRÉIA PRESITENTE

PROTOCOLO

1. Identificação:

Nome: _____

Data de nascimento: ____/____/____

Idade: _____ meses

Sexo (1) masculino (2) feminino

Número prontuário: _____

Número randomização: _____

Número tratamento: _____

Dia admissão no projeto: ____/____/____

Hora admissão projeto: ____: ____ h

Data randomização: ____/____/____

Hora randomização: ____: ____ h

(hora da primeira aplicação do N-ACC)

2. Sintomas antes da admissão:

Duração da diarreia antes da admissão: ____ dias

Número de evacuações 24 horas antes da admissão: _____

Fezes com muco: (1) sim (2) não

Fezes com sangue: (1) sim (2) não

Duração dos vômitos antes da admissão(h): _____

Número de vômitos antes da admissão: _____

Febre antes da admissão (1) sim (2) não

Uso de ATB durante o atual episódio diarréico: (1)sim (2)não

3. Alimentação antes da diarreia

Paciente desmamado? (1) sim (2) não

Idade desmame: _____

Usou LM ? (1)sim (2)não

Fórmula láctea? (1)sim (2)não

Alimentos sólidos ou semi-sólidos? (1) sim (2) não

4. Alimentação após a diarreia

Usou LM? (1) sim (2) não

Usou fórmula láctea? (1) sim (2) não

Usou alimentos sólidos ou semi-sólidos? (1) sim (2) não

5. Antecedentes importantes

Outros episódios de diarreia persistente?

(1) sim (2) não

Quantos? _____ Duração do último episódio _____ dias

Bebe água filtrada ou fervida em casa?

(1) sim (2) não

6. Exame físico

Febre na admissão? (1) sim (2) não

Desidratação: (1) sim (2) não

Tipo de desidratação

(1) nenhum - Plano A

(2) moderado - Plano B

(3) severo – Plano C

Outros diagnósticos:

(0) nenhum (7) patologia cirúrgica

(1) Pneumonia (8) Ascariíase

(2) Sepsis (9) Disenteria

(3) IVAS (10) Outros: _____

(4) Broncoespasmo

(5) Monilíase (11) mais de 1 diagnóstico

(6) Meningite

7. Dados antropométricos

Peso admissão: _____ g

Peso randomização: _____ g

Peso na alta: _____ g

Peso no retorno: _____ g

Estatura admissão: _____ cm

Estatura na alta: _____ cm

Índice P/A(mediano): _____

P/A alta: _____

Índice P/I (mediano): _____

P/I alta: _____

CB admissão _____ cm

CB alta _____ cm

PCT admissão _____ mm

PCT alta _____ mm

8. Exames de sangue

Leucócitos: _____

Neutrófilos: _____

Eosinófilos: _____

Basófilos: _____

Linfócitos: _____

Monócitos: _____

Plaquetas: _____

Sódio: _____

Potássio (K⁺): _____Cloro(Cl⁻): _____

Hematócrito: _____

Hemoglobina: _____

VHS (Velocidade da Hemo-sedimentação)

Proteínas totais: _____

Albumina: _____

Ácido úrico: _____

HIV: (1) positivo (2) negativo

(Essa informação não faz parte do banco de dados)
Mostra de sangue (2ml) antes da primeira aplicação
do suplemento dietético? (1) sim (2) não

Mostra de sangue (2 ml) no dia da alta?
(1) sim (2) não

Resultado Parasitológico de fezes:

- (0) nenhum
- (1) Ascaris
- (2) Tricocéfalo
- (3) Estrongilóides
- (4) Enteróbius vermicularis
- (5) Ancylostoma duodenalis
- (6) Giardia lamblia
- (7) Entamoeba histolyticum (ameba)
- (8) Outros: _____
- (9) Mais de um diagnóstico: _____

Resultado de coprocultura

- (0) negativo
- (1) EPEC A (E.coli enteropatogénica tipoA)
- (2) EPEC B
- (3) Shigella
- (4) Salmonella

(5) Outros: _____

Cryptosporidium nas fezes

(1) positivo (2) negativo

Rotavírus nas fezes

(2) positivo (2)negativo

10. Última dejeção anormal:

Data: ___/___/___

Hora: ___/___/___

Cessação da diarreia:

Data: ___/___/___

Hora: ___/___/___

Alta do estudo:

Data: ___/___/___

Hora: ___/___/___

Duração da diarreia: A partir da 1ª tomada do suplemento
 _____consumido:_____

Resumo de sachês

Número total de sachês consumido: ___ x 3g = ___ g de placebo/N-ACC consumido
 (suplemento dietético)

| Variáveis | Período pré-randomização | D1 | D2 | D3 | D4 | D5 | D6 | D7 | D8 | D9 |
|------------------------------|--------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| PF anormal | | | | | | | | | | |
| PF normal | | | | | | | | | | |
| Perda Urina | | | | | | | | | | |
| Vomito | | | | | | | | | | |
| SRO | | | | | | | | | | |
| Gavagem(s) (n) | | | | | | | | | | |
| Água | | | | | | | | | | |
| Fluidos IV | | | | | | | | | | |
| Fórmula | | | | | | | | | | |
| LM | | | | | | | | | | |
| Alimentos solido/semi-solido | | | | | | | | | | |
| Peso | | | | | | | | | | |
| Ingesta | | | | | | | | | | |

| Variáveis | Período pré-randomização | D10 | D12 | D13 | D14 |
|------------------------------|--------------------------|-----|-----|-----|-----|
| PF anormal | | | | | |
| PF normal | | | | | |
| Perda Urina | | | | | |
| Vomito | | | | | |
| SRO | | | | | |
| Gavagem(s) (n) | | | | | |
| Água | | | | | |
| Fluidos IV | | | | | |
| Fórmula | | | | | |
| LM | | | | | |
| Alimentos solido/semi-solido | | | | | |
| Peso | | | | | |
| Ingesta | | | | | |

Anexo 4. Formulário de anamnese nutricional

ANAMNESE NUTRICIONAL

Prontuário: _____

1. Identificação do Paciente

Nome: _____
Data da Entrevista: ___/___/___ Data de Nascimento: ___/___/___ Idade: _____
A termo () Pré-termo () Idade Gestacional: _____ Peso de Nascimento: _____ g
Comprimento de Nascimento: _____ cm
Responsável: _____ Procedência: _____

2. História Alimentar

Apetite: Normal () Aumentado () Diminuído () Alterado atualmente: () Sim () Não
Intolerância Alimentar: () Alimentos: _____
Alergia Alimentar: () Alimentos: _____

3. História Social

Água encanada: () Banheiro: () Geladeira: () Nº pessoas: () Água de consumo: _____
Renda familiar mensal: _____ Idade da mãe: () Escolaridade da mãe: _____
Nº de filhos: () Benefícios: _____

4. Aleitamento Materno

Exclusivo até _____ Observações: _____
Predominante de _____ até _____ Água: _____ Chá: _____ OBS.: _____
Complementado de _____ até _____ Observações: _____
Misto de _____ até _____ Observações: _____
Misto complementado de _____ até _____ Observações: _____
Artificial de _____ até _____ Idade do Desmame: _____
Artificial complementado de _____ até _____ Observações: _____

5. Frequência Alimentar

| Alimentos | Idade de Introdução | Alimento | Preparação | Frequência | | Obs |
|--------------------|---------------------|----------|------------|------------|---------|-----|
| | | | | Diária | Semanal | |
| Hortaliças | | | | | | |
| Leguminosas | | | | | | |
| Cereais/ derivados | | | | | | |
| Farináceos | | | | | | |
| Leite / derivados | | | | | | |
| Ovo – clara / gema | | | | | | |
| Fígado | | | | | | |
| Carne | | | | | | |

| | | | | | | |
|--------|--|--|--|--|--|--|
| Frango | | | | | | |
| Peixe | | | | | | |
| Sucos | | | | | | |
| Frutas | | | | | | |

6. Ingestão Habitual

| HORA | PREPARAÇÃO | QUANTIDADE | ALIMENTOS | QUANTIDADE |
|------|------------|------------|-----------|------------|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

Tx. Calórica: ____ Kcal/Kg Tx. Ptn: ____g/Kg (%) Tx. HC: ____g/Kg (%) Tx. Lip.: ____g/Kg (%)

Relação: ____ Ca: ____mg Fe: ____mg Zn: ____mg Na: ____mg K: ____mg Fibra: ____g

7. Recordatório Alimentar – 24 Horas

8. Higiene, Manipulação e Oferta das Refeições:

- As refeições lácteas são oferecidas logo após o seu preparo? () Sim () Não

- Quando a criança está na rua, o que é oferecido para ela comer?

- Após oferta das refeições, as sobras são desprezadas ou oferecidas mais tarde à criança?

OBSERVAÇÕES:

9. Avaliação Antropométrica

| Data | Peso | Estatura |
|------|------|----------|
| | | |
| | | |
| | | |

| ___/___/___ | Percentil | Z-score | Mediana |
|-------------|-----------|---------|---------|
| A/I | | | |
| P/I | | | |
| P/A | | | |

9.1 Diagnóstico Nutricional

| |
|--|
| |
|--|

IMPORTANTE: CONSTRUIR GRÁFICO DE CRESCIMENTO.

10. Exame Físico

| Data | Sinais | | | | | | |
|------|--------|------|-------|---------------|------|-------|-------------------|
| | Cabelo | Face | Olhos | Cavidade oral | Pele | Unhas | Tecido subcutâneo |
| | | | | | | | |

11. Diagnóstico Clínico

| |
|--|
| |
|--|

12. Conduta Nutricional Adotada (cálculos nutricionais)

| |
|--|
| |
|--|

13. Observações Importantes

| |
|--|
| |
|--|

Anexo 5 – Folha de controle de perdas fecais



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
 CENTRO PEDIÁTRICO PROF. HOSANNAH DE OLIVEIRA
 Unidade Metabólica Fima Lifshitz
 Centro de Capacitação e Pesquisas Diarréicas e Nutrição



NOME DO PACIENTE: _____

| FEZES | HORA | PESO(g) | ANTES(g) | DEPOIS(g) | FEZES (g) | CONSISTÊNCIA | | | | | COR | | | pH | SR | OBS |
|-------|------|---------|----------|-----------|-----------|--------------|---|----|----|---|-----|---|---|----|----|-----|
| | | | | | | E | P | SP | SL | L | A | V | M | | | |
| | | | | | | E | P | SP | SL | L | A | V | M | | | |
| | | | | | | E | P | SP | SL | L | A | V | M | | | |
| | | | | | | E | P | SP | SL | L | A | V | M | | | |
| | | | | | | E | P | SP | SL | L | A | V | M | | | |
| | | | | | | E | P | SP | SL | L | A | V | M | | | |
| | | | | | | E | P | SP | SL | L | A | V | M | | | |
| | | | | | | E | P | SP | SL | L | A | V | M | | | |

LEGENDA: E: endurecida; P: pastosa; SL: semi-líquida; L: líquida; A: amarela; V: verde; M: marrom; B: branca; A + V: amarelo-esverdeada

Anexo 9 – Ficha de controle de consumo alimentar



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
CENTRO PEDIÁTRICO PROF. HOSANNAH DE OLIVEIRA
 Unidade Metabólica Fima Lifshitz
 Centro de Capacitação e Pesquisas Diarréicas e Nutrição



INGESTÃO (ml ou g)

NOME DO PACIENTE: _____

DATA QUANT INÍCIO TÉRMINO RESTO PERDA INGE TIPO VIA

| DATA | QUANT | INÍCIO | TÉRMINO | RESTO | PERDA | INGE | Ne | Hi | Fs | F | C | S | Su | Bis | Vit | Io | L | So | A | IV | VO | VS |
|------|-------|--------|---------|-------|-------|------|----|----|----|---|---|---|----|-----|-----|----|---|----|---|----|----|----|
| | | | | | | | Ne | Hi | Fs | F | C | S | Su | Bis | Vit | Io | L | So | A | IV | VO | VS |
| | | | | | | | Ne | Hi | Fs | F | C | S | Su | Bis | Vit | Io | L | So | A | IV | VO | VS |
| | | | | | | | Ne | Hi | Fs | F | C | S | Su | Bis | Vit | Io | L | So | A | IV | VO | VS |
| | | | | | | | Ne | Hi | Fs | F | C | S | Su | Bis | Vit | Io | L | So | A | IV | VO | VS |
| | | | | | | | Ne | Hi | Fs | F | C | S | Su | Bis | Vit | Io | L | So | A | IV | VO | VS |
| | | | | | | | Ne | Hi | Fs | F | C | S | Su | Bis | Vit | Io | L | So | A | IV | VO | VS |

LEGENDA: Ne: neocate; Hi: hidrolisado protéico; Fs: fórmula de soja; F: fruta; C: comida; S: sopa; Su: suco; Bis: biscoito; Vit: vitamina; L: leite; Io: iogurte; So: soro; A: água // IV: intravenosa; VO: via oral; VS: via sonda.

Anexo 10 - Ficha para cálculo do balanço nutricional de 24 horas



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
 CENTRO PEDIÁTRICO PROF. HOSANNAH DE OLIVEIRA
 Unidade Metabólica Fima Lifshitz
 Centro de Capacitação e Pesquisas Diarréicas e Nutrição



Nome:

D.N.: / /

Hora Balanço:

| Data | Dieta / Volume prescrito | VET | Volume ingerido | Tx calórica prevista (kcal/kg/d) | Tx protéica prevista (g/kg/d) | Tx glicídica prevista (g/kg/d) | Tx lipídica prevista (g/kg/d) | Peso (kg) |
|------|--------------------------|------|-----------------|----------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-----------|
| | | | | Gr Ptn | Gr Lip | Gr CHO | % ingerido | |
| | | VET= | | | | | | |
| | | PTN= | | | | | | |
| | | CHO= | | | | | | |
| | | LIP= | | | | | | |
| | | LIP= | | | | | | |

Anexo 11– Capa do balanço metabólico dos pacientes admitidos no projeto



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
 CENTRO PEDIÁTRICO PROF. HOSANNAH DE OLIVEIRA
 Unidade Metabólica Fima Lifshitz
 Centro de Capacitação e Pesquisas Diarréicas e Nutrição



PACIENTE DO PROJETO N-ACC

| | | | |
|-----------|--------|------------|--|
| PACIENTE: | | | |
| DATA ADM: | | DATA ALTA: | |
| HORA: | IDADE: | REGISTRO: | |

**1º DIA EXAMES LABORATORIAIS:
 ADMISSÃO OU APÓS HIDRATAÇÃO**

EXAMES DE FEZES:

| | DATA | HORA | RESULTADO | | DATA | HORA | RESULTADO |
|-------|------|------|-----------|--|------------|------|-----------|
| LEUCO | | | | | COPRO | | |
| Ht | | | | | PF (Hupes) | | |
| Hb | | | | | PF (Lacen) | | |
| Cl | | | | | ROTAV. | | |
| P | | | | | OUTROS EX: | | |
| Na | | | | | UROCUL | | |
| Ca | | | | | RX TÓRAX | | |
| Mg | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | |
|-------------|--|--|--|--|--------------------------------|---|------|-----|---|--|
| Creat. | | | | | pH | | | | | |
| Ur | | | | | SR | 0 | 0,25 | 0,5 | 1 | |
| Glicemia | | | | | * 0 = valor considerado normal | | | | | |
| Prot. E frc | | | | | OBS: | | | | | |
| HIV | | | | | | | | | | |
| Hemocultura | | | | | | | | | | |

Anexo 13. Berço metabólico



Anexo 14. Oferecimento da dieta do estudo



Anexo 15. Artigo a ser encaminhado para publicação

AValiação DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM N-ACETILCISTEÍNA EM CRIANÇAS COM DIARRÉIA PERSISTENTE.

M^a Efigênia de Queiroz Leite, MD, Ângela Mattos MD, MS, Tereza Cristina M. Ribeiro MD, Sandra Valois RD, Hugo Costa-Ribeiro, Jr. MD, PhD.

Key words: Persistent diarrhea, dietetic supplementation, children, antioxidant- N-acetylcisteína

Objective: To evaluate the effect of dietary supplementation with the antioxidant N-acetylcisteína (NAC), offered to children with persistent diarrhea.

Subjects: Fifty-five children of both sexes, aged more than 2 months and less than 3 years, with persistent diarrhea.

Methods: The patients were divided, randomly, into two groups that received standard diet the natural yogurt and dietary supplementation with 3 g of NAC (28 children) or placebo (27 children) twice daily. These children were kept in a metabolic unit, where the weight, dietary intake, serum of oral rehydration, water, and fecal loss, urinary and vomiting were measured throughout the study and examined every 24 hours. We performed anthropometric and biochemical evaluations at the hospital and discharged from the study.

Results: At the end of the observation period, data showed that the median duration of diarrhea (h) and fecal loss (ml / kg / day) were lower for the test group, although without statistical significance. Anemia was highly prevalent in both groups. Breast-feeding practice was not frequent. The prevalence of malnutrition according to weight for height index was very high. Average caloric intake and weight gain were similar between groups.

Conclusion: This study demonstrates that the use of N-ACC as a supplement in the diet of children with persistent diarrhea may provide therapeutic advantages when compared with the conventional management.

INTRODUÇÃO

Apesar de todos os avanços no conhecimento sobre a epidemiologia, transmissão e patogenia da diarréia infecciosa em crianças, essa doença ainda se apresenta como uma das principais causas de mortalidade na faixa etária pediátrica, principalmente entre os menores de 01 ano de vida [1, 2,3].

Em vários estudos populacionais, os números têm demonstrado que, embora os episódios de diarréia persistente sejam menos frequentes que os episódios de diarréia aguda, são eles os mais passíveis de conduzir o paciente à evoluções desfavoráveis [4]. Dados nacionais de 1998 apontaram para uma taxa de mortalidade de 11.1% num grupo de 189 crianças hospitalizadas por diarréia persistente [2]. Um estudo realizado no nordeste do Brasil, em 1994, avaliou 246 crianças hospitalizadas por doença diarreica, das quais 43.1 % tinham diarréia aguda e 56.9 8% diarréia persistente. Nesse estudo, embora a taxa de mortalidade tenha sido de 15 %, das 37 crianças que foram a óbito 27 (72.9%) tiveram episódios persistentes [5].

Já está bem documentado na literatura que o componente nutricional tem papel decisivo na evolução clínica da doença [6, 7, 8]. A infecção afeta, adversamente, o estado nutricional através da redução na ingestão dietética e da absorção intestinal,

aumentando o catabolismo e o desvio de nutrientes requeridos para a síntese de tecidos, células e crescimento. Isto interfere no aporte de nutrientes essenciais para a manutenção do sistema de defesa antioxidante.

Estudos apontam para a importante correlação entre a redução das reservas antioxidantes com o prolongamento da duração de processos patológicos crônicos [9, 10, 11, 12]. Crianças que apresentam patologias crônicas, dentre elas a desnutrição e a diarreia persistente, estão expostas a um maior grau de stress oxidativo e a outros fatores que comprometem suas defesas antioxidantes [9,12,13].

O consumo alimentar guarda uma forte correlação com os níveis corporais de elementos antioxidantes que podem ser provenientes da dieta (Vit. A, Vit. C, Vit. E, zinco,etc..) ou sintetizados endogenamente (superóxido dismutase - SOD, glutathiona-GSH, catalase -CAT entre outros) [15]. A glutathiona (GSH) tem sido apontada como um dos mais importantes antioxidantes endógenos sendo encontrado em diversos tecidos incluindo o intestino. A n-acetilcisteína (NAC) é convertida no organismo em metabólitos que estimulam a síntese da glutathiona, promovendo detoxicação celular e atuando diretamente contra os radicais livres [16]. A NAC vem sendo utilizada no tratamento de algumas patologias e parece ter efeitos benéficos em condições clínicas, caracterizadas por elevado stress oxidativo ou baixos níveis de glutathiona, enfermidades como HIV, doenças cardíacas e respiratórias e a Desnutrição [17, 18, 19].

Considerando as propriedades antioxidantes da NAC e, o elevado catabolismo tissular ocorrido na diarreia persistente, além dos poucos trabalhos existentes na literatura sobre o stress oxidativo e sua implicação na diarreia persistente, este estudo procurou avaliar se a suplementação dietética com NAC poderia conduzir a uma melhor evolução do quadro clínico e nutricional de crianças internadas com diarreia persistente.

MÉTODOS E SUJEITOS

População do estudo

Trata-se de um ensaio clínico, duplo cego, realizado na Unidade Metabólica FIMA Lifshitz do Centro Pediátrico Professor Hosannah de Oliveira, Universidade Federal da Bahia, Brasil, de janeiro de 2004 a dezembro de 2007. O estudo foi aprovado pelo Comitê de ética em Pesquisa do Hospital Universitário Professor Edgard Santos – UFBA. Foram incluídas no estudo 55 Crianças de ambos os sexos com idades

entre 2 a 36 meses, com história de diarreia persistente (>14 dias) com ou sem sinais clínicos de desidratação. A natureza do estudo foi claramente explicada aos pais ou responsáveis legais através de um termo de consentimento livre esclarecido que foi obtido antes da admissão da criança no estudo. Os critérios de exclusão foram: presença de infecções graves (pneumonia, meningite ou septicemia), crianças portadoras de doenças crônicas, má formação congênita, desnutridas graves, em aleitamento materno exclusivo ou que não foram autorizados a participar do estudo pelos pais e/ou responsáveis através da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido

Operacionalização o estudo

Os pacientes foram mantidos em um leito metabólico e todas as doses de suplemento, ingestão alimentar, além das perdas: fecal, vômitos e urina foram medidas e registradas a cada 24 horas, até a cessação da diarreia, na ficha de coleta de dados do paciente. As perdas fecais foram mensuradas com uso de fraldas pré-pesadas ou coletadas em recipiente plástico acoplado ao leito metabólico. A urina foi medida através da utilização de sacos coletores ou fraldas pré-pesadas. As perdas por vômitos também foram quantificadas através da pesagem de babadores, fraldas e roupas. O peso corporal foi registrado na admissão e a cada 24 horas de intervalo até a alta. Avaliação laboratorial, incluindo hemograma, eletrólitos, sumário de urina, parasitológico de fezes e coprocultura foi realizada no momento da admissão.

Coleta de dados antropométricos e avaliação do estado nutricional

Uma vez considerado elegível para o estudo, anamnese e exame físico detalhados foram realizados no momento da admissão do paciente no projeto. As crianças foram pesadas em balança digital marca *Filizola*, modelo *ID 1500*, com sensibilidade de 10g registrando-se o peso em gramas. A medida da estatura foi obtida com uso de antropômetro horizontal de madeira (menores de 2 anos) com precisão de 0,1 cm, e estadiômetro vertical (maiores de 2 anos), com precisão de 0,1 cm.. O indicador antropométrico utilizado para a avaliação do estado nutricional das crianças foi o peso/estatura, por ser considerado o indicador de escolha para as situações que implicam em ações em curto prazo [20]. O padrão de referência utilizado foi o do National Center for Health Statistics – NCHS [21]. O cálculo dos indicadores foi realizado utilizando o programa ANTHRO, versão 1.01, proposto pela Divisão de

Nutrição do “*Center for Disease Control*”, em colaboração com a Organização Mundial de Saúde. Os resultados foram expressos em z-score, que indica a distância entre o valor encontrado e a média da população de referência, levando-se em consideração o desvio-padrão. Os pontos de corte preconizados pela Organização Mundial de Saúde foram utilizados [22]

Manejo nutricional e clínico

As crianças que preencheram os critérios de inclusão foram aleatoriamente randomizadas para um dos grupos de tratamento. O que diferia entre os grupos era a adição à dieta de um sachê contendo 3 g de NAC (grupo tratamento) ou 3 g de placebo duas vezes ao dia, em horários previamente estabelecidos (9 e 21 horas). O suplemento foi oferecido a partir do momento da randomização para o estudo até a alta. Ambos os suplementos foram acondicionados em sachês idênticos e a alimentação foi preparada por pessoal que não estava diretamente envolvido no protocolo, a fim de manter a cegueira do estudo. As necessidades energéticas foram calculadas individualmente para cada paciente segundo as recomendações da FAO / OMS / ONU (1985). A fim de evitar variáveis confundidoras a dieta foi baseada apenas na oferta de iogurte natural integral modificado e do leite materno. O iogurte foi modificado (diluição em água e adição de açúcar e óleo vegetal) para atingir uma composição nutricional semelhantes às fórmulas infantis. Pacientes que após 72 horas de tratamento dietético não atingiram um consumo de 100 kcal / kg / dia por via oral e perderam peso, tiveram uma sonda nasogástrica introduzida, a fim de permitir uma adequação da ingestão da fórmula e calorias. Foi considerado critério para cessão da diarreia o momento em que o paciente apresentava um período de 24 horas consecutivas sem nenhuma evacuação líquida ou semilíquida, ou apenas com evacuações pastosas ou semi-pastosas, ou quando nenhuma evacuação ocorria nesse intervalo de tempo, de acordo com critérios da OMS. Alta do estudo foi considerada quando o paciente, após ter apresentado cessação da diarreia, apresentou peso maior ou igual ao peso da randomização ou obteve dois dias consecutivos de ganho ponderal (> 20 g/dia).

ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram coletados e registrados em fichas codificadas e, em seguida, foram inseridos em uma base de dados organizada utilizando-se o pacote estatístico (SPSS 10.0). O teste T-Student foi usado para comparação de médias entre os grupos. O

teste de *Kolmogorov-Smirnov* foi aplicado para verificar o comportamento das variáveis contínuas em relação à distribuição gaussiana, considerando a avaliação subjetiva das medidas de tendência central e de dispersão. A mediana (*Md*), associada aos percentis 25 e 75 (respectivamente, P_{25} e P_{75}), foi utilizada como medida sumarizadora dos dados quando foram aplicados testes não-paramétricos. Média (χ) e desvio-padrão (DP) foram utilizados para expressar os dados quando testes paramétricos foram aplicados. Para fins da análise de sobrevivência considerou-se a duração da diarreia como “tempo de sobrevivência” e a cessação da diarreia como “evento falha”. Foi realizada análise de sobrevivência de *Kaplan-Meyer* para comparação da duração da diarreia entre os grupos. . Em todos os testes foi fixado o valor-p menor ou igual a 0,05 para indicar diferenças estatísticas, ou seja, rejeição da hipótese nula.

RESULTADOS

Foram estudados 59 pacientes (29 no grupo tratamento e 29 no grupo placebo), sendo que dois pacientes do grupo placebo e um do grupo tratamento foram excluídos do projeto por não terem apresentado dejeções líquidas ou semi-líquidas após admissão. Um paciente do grupo tratamento foi excluído por apresentar alterações clínicas necessitando de conduta diferenciada com troca de fórmula dietética. Dessa forma, foram incluídos na análise 55 pacientes (28 no grupo tratamento e 27 no grupo placebo).

As características clínicas e laboratoriais foram semelhantes entre os grupos (Tabelas I e II). Anemia foi altamente prevalente em ambos os grupos (83,6%) com uma hemoglobina média de $10,1 \pm 1,1$ g/dl. A prática do aleitamento não foi freqüente, com uma idade média de desmame de 2,7 meses ($p=0,10$). Observou-se um percentual ainda elevado de modificações na dieta, por parte das mães, após início do episódio diarreico (27, 3%) sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos. A caracterização do estado nutricional das crianças, segundo o indicador peso/estatura, à admissão e na alta do projeto, está apresentada no Gráfico 1. A prevalência de desnutrição segundo o índice peso para altura (P/A) foi elevada (50, 9%) o que pode ser resultado do caráter prolongado da diarreia. Foi observada uma importante diferença nas medianas de duração da diarreia (30,08 horas) para o grupo tratamento e (45,75 horas) para o grupo placebo não sendo esta diferença estatisticamente significativa ao nível de significância de 5,0% (*Teste Mann – Whitney*; $p=0,07$). Verifica-se na tabela 3, que em relação ao

tempo de duração do internamento, o impacto foi ainda maior quando comparamos o grupo tratamento (48,00 horas) com o grupo placebo (96,00 horas), onde foi observado um tempo de permanência na enfermaria, duas vezes maior para o grupo placebo, apesar dessa diferença não ser estatisticamente significativa ao nível de significância de 5,0% (*Teste Mann – Whitney*; $p=0,32$). A mediana de perda fecal evidenciou um menor volume de perdas no grupo tratamento (9,68 g/kg) quando comparado com o grupo placebo (26,73 g/kg), o que equivale a uma redução na perda fecal de aproximadamente 63,7% para o primeiro grupo. Essa diferença não apresentou significância estatística ao nível de significância de 5,0% (*Teste Mann – Whitney*; $p=0,28$).

A ingestão calórica média bem como o ganho de peso foram semelhante entre os grupos.

DISCUSSÃO

Por se tratar de uma doença universal que atinge as pessoas de todas as classes sociais, e dada a relevância do impacto da diarreia persistente sobre a mortalidade em crianças, principalmente em menores de 5 anos, é fundamental que sejam conduzidos estudos enfocando medidas preventivas e terapêuticas capazes de promover uma redução na sua morbiletalidade.

A diarreia persistente acarreta alterações tanto no consumo quanto na absorção de nutrientes, podendo causar graves repercussões nutricionais. A prevalência de anemia na população estudada foi bastante elevada (83,6%). Estes dados são superiores aos observados anteriormente na população de Salvador-BA, onde foi encontrada uma prevalência de 64,7% de anemia, no ano de 1996 [23]. Porém são semelhantes a outros estudos anteriores envolvendo lactentes com diarreia aguda e persistente acompanhados pela equipe do Centro de Pesquisa Fima Lifshitz [24].

Apesar dos indicadores nutricionais desfavoráveis, os dados revelam uma evolução ponderal satisfatória em ambos os grupos de estudo, com melhora significativa do estado nutricional das crianças até o final da internação. Ao comparamos a avaliação nutricional da admissão e da alta, observamos que houve uma melhora nas médias do índice peso/altura, em relação ao z-score, que na admissão era -1,09 e na alta - 0,9. A recuperação nutricional observada revela o quão fundamental é uma abordagem nutricional, interrompendo o ciclo diarreia-desnutrição. A assistência multiprofissional e

individualizada ao paciente durante toda a internação, bem como a adoção de condutas padronizadas de terapia nutricional podem ter contribuído para estes achados.

Apesar das discussões, não existe até o momento, nenhuma evidência científica sobre o uso de agentes antioxidantes e seus efeitos sobre a diarreia persistente. Em nosso trabalho, não foi evidenciada uma diferença estatisticamente significativa na duração da diarreia, duração do internamento e perda fecal, das crianças que utilizaram o NAC em comparação com as que utilizaram o placebo. No entanto, houve um importante impacto clínico no que diz respeito a redução na duração do episódio diarreico significativamente maior que o esperado para realização do cálculo amostral (34%) e uma perda fecal 54,6% menor entre as crianças que fizeram uso da NAC quando comparadas com as que utilizaram o placebo. O tempo de internamento também apresentou uma queda brusca de 50% para os pacientes que fizeram uso da NAC. Estes resultados têm uma significativa relevância clínica uma vez que, a redução da duração do episódio diarreico leva a um menor tempo de internamento dos pacientes, com conseqüente redução dos custos hospitalares (material, medicação etc.) e maior otimização na utilização dos leitos.

Estudos já demonstraram que o tempo de internamento prolongado favorece a instalação de sérios déficits nutricionais além de aumentar a possibilidade de infecção hospitalar. No Brasil, as crianças internadas em hospitais públicos freqüentemente apresentam evolução nutricional insatisfatória, com perda ponderal significativa [25, 26]. Isto é evidenciado pela relação direta entre tempo de internação e maior prevalência de desnutrição. Para uma parcela dos pacientes, a ocorrência de desnutrição durante a internação é atribuída à gravidade da doença de base. Dessa forma, novas possibilidades terapêuticas no manejo dietético que favoreçam a redução do tempo de internamento, principalmente em crianças, poderão acarretar também uma queda na morbimortalidade com redução do impacto do internamento sobre o estado nutricional destas crianças.

Por isso, entendemos que esse estudo aponta para um possível efeito positivo da suplementação dietética com esse antioxidante, sendo necessários que novos ensaios clínicos sejam realizados, nas mesmas condições de controle, e em crianças com diarreia persistente.

TABELA 1 – Características admissionais dos pacientes de acordo com grupo de tratamento, CPPHO –UFBA, 2004-2007.

| | Grupo Tratamento n= 28 | | Grupo Placebo n=27 | | P* valor |
|-------------------------------------------------|---------------------------|------|-----------------------|-------|----------|
| | \bar{x} | DP | \bar{x} | DP | |
| Idade (meses) | 10,84 | 7,52 | 11,63 | 7,87 | 0,70 |
| Duração da Diarréia antes da admissão (dias) | 19,86 | 7,30 | 23,15 | 13,88 | 0,27 |
| Número de dejeções 24hs antes da admissão | 6,50 | 2,90 | 6,42 | 2,96 | 0,92 |
| Idade do desmame (meses) ** | 1,94 | 1,35 | 3,58 | 3,93 | 0,10 |

* Teste *T de Student*

** n = 55 (17 crianças ainda mamavam)

TABELA 2 - Dados laboratoriais admissionais das crianças estudadas por grupo de tratamento, CPPHO –UFBA, 2004-2007.

| | Grupo Tratamento n = 28 | | Grupo Placebo n = 27 | | P* valor |
|--------------------------------|----------------------------|------|-------------------------|------|----------|
| | χ | DP | χ | DP | |
| Cloro sérico (mEq/l) | 106,62 | 4,43 | 106,86 | 4,41 | 0,84 |
| Sódio sérico (mEq/l) | 138,33 | 4,07 | 138,64 | 2,99 | 0,76 |
| Potássio sérico (mEq/l) | 04,38 | 0,97 | 04,52 | 0,62 | 0,47 |
| Hematócrito (%) | 30,72 | 2,08 | 31,81 | 3,88 | 0,91 |
| Hemoglobina (g/dl) | 10,01 | 0,77 | 10,23 | 1,38 | 0,47 |
| Albumina (g/dl) | 03,54 | 0,64 | 03,46 | 0,70 | 0,68 |

* Não houve diferença entre os grupos utilizando o teste *T de Student*, assumindo um $p < 0,05$.

TABELA 3 - Curso clínico da doença, segundo o grupo de tratamento, CPPHO-UFBA, 2004-2007.

| | Grupo Tratamento n = 28 | | | Grupo Placebo n = 27 | | | P* valor |
|--------------------------|----------------------------|-------|-----------------|-------------------------|--------|-----------------|-------------|
| | P ₂₅ | Md | P ₇₅ | P ₂₅ | Md | P ₇₅ | |
| Duração da diarreia (h) | 24,00 | 30,08 | 78,85 | 23,25 | 45,75 | 81,50 | 0,07 |
| Duração internamento(h) | 48,00 | 48,00 | 96,00 | 72,00 | 96,00 | 144,00 | 0,32 |
| Perda fecal total (g) | 03,00 | 78,50 | 616,75 | 7,00 | 173,00 | 602,00 | 0,86 |
| Perda fecal total (g/kg) | 0,43 | 9,68 | 112,19 | 1,27 | 26,73 | 57,11 | 0,28 |

* Foi encontrada diferença entre os grupos utilizando o teste χ^2 , para um $p < 0,05$ apenas para a duração da diarreia(h)

Gráfico 1- Estado nutricional dos pacientes, na admissão e na alta do estudo, segundo a média do z-score de Peso para Altura (P/A) por grupo de tratamento.

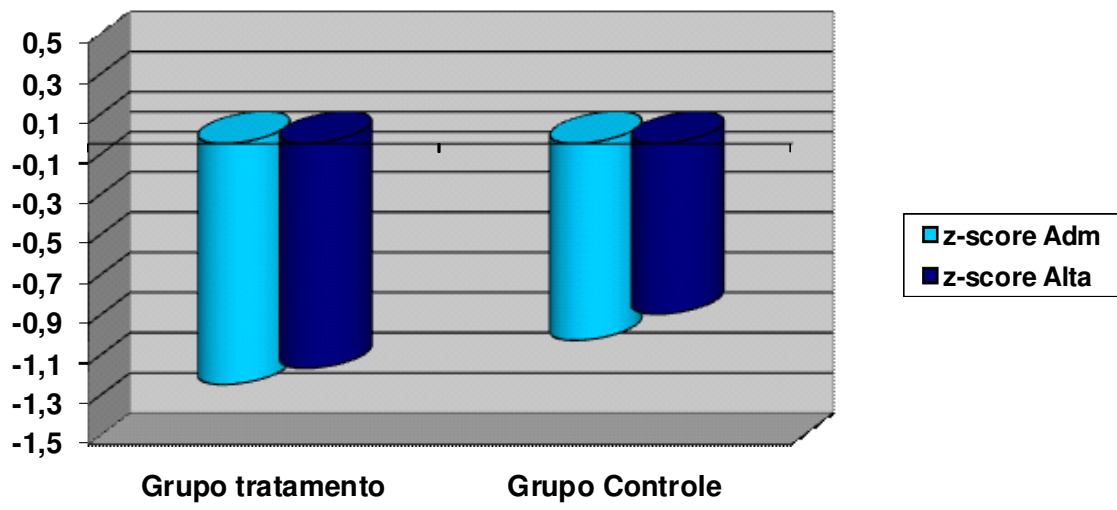
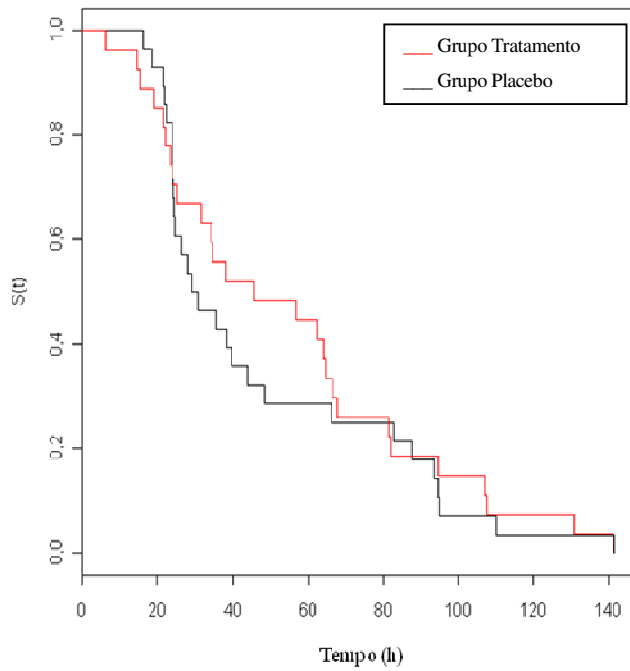


Figura 1. Análise de sobrevivência – Kaplan-Meier, da duração da diarreia por grupo de tratamento.



REFERENCIAS:

1. Mbori-Ngacha DA, Otieno JA, Njeru EK, Onyango FE. Prevalence of persistent diarrhoea in children aged 3-36 months at the Kenyatta National Hospital, Nairobi, Kenya. *East African Medical Journal* 1995; 72:711-4.
2. Andrade JAB, Gomes TAT, Neto UF. Letalidade em lactentes com diarréia persistente: fatores de risco associados ao óbito. *Arq Gastroenterol* 1998; 35(1): 62-8.
3. WHO (World Health Organization). The global burden of diarrhoeal disease as estimated from studies published between 1992 and 2000. *Bull World Health Organ* 2003; 81(3): 197-204.
4. WHO (World Health Organization). Diarrhoeal Diseases Control Programme. Persistent diarrhoea in children in development countries. Report of a WHO Meeting. *Bull World Health Organ* 1988; 66:709-717.
5. Bhatnagar S, Bhan MK, Singh KD, Shrivastav R. Prognostic factors in hospitalized children with persistent diarrhea: implications for diet therapy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1996; 23:151-8.
6. Bhutta ZA, Hendrics KM. Nutritional management of persistent diarrhea in Childhood: a prospective from the developing world. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1996; 22: 33-7.
7. Gracey, M. Nutritional effects and management of diarrhoea in infancy. *Acta Paediatr* 1999; 88(Suppl): S 110-26.
8. Carver JD, Walker WA. The role of nucleotides in human nutrition. *Nutr Biochem* 1995; 6: 58-71.
9. Salem SI, Ashour MN, El-Gadban HM, Elwan NM, Basu TK. Antioxidant status in children with protein-energy malnutrition (PEM) living in Cairo, Egypt. *Eur J Clin Nutr* 1999; 52: 669-73.
10. Manary MJ, Leeuwburgh C, heinecke J W. Increased oxidative stress in kwashiorkor. *J Pediatr* 2000; 137(3): 421-4.
11. Fechner A, Böhme C, Gromer S, Funk M, Schirmer R, Becker K. Antioxidant Status and Nitric Oxide in the Malnutrition Syndrome Kwashiorkor. *Pediatr Res* 2001; 49: 237-43.

12. Granot E, Cohen H. Oxidative Stress in childhood – in health and disease states. *Clin Nutr* 2004; 23: 3-1.
13. Jackson AA. Glutathione in Kwashiorkor. *Am J Clin Nutr*, 2002; 76: 495-6.
14. Granot E, Binsztok M, Fraser D, Deckelbaum RJ, Weizman Z. Oxidative stress is not enhanced in non-malnourished infants with persistent diarrhea. *J Trop Pediatr* 2001; 47: 284-87.
15. Bianchi MLP, Antunes LMG. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Rev Nutr* 1999; 12(2): 123-30.
16. Hagen TM, Wierzbicka GT, Sillau A H, Bowman BB, Jones D P. Bioavailability of dietary glutathione; effect on plasma concentration. *Am J Physiol* 1990; 259: 524-529.
17. Flanagan R J, Meredith TJ. Use of N-acetylcysteine in clinical toxicology. *Am J Med* 1991; 91(3): S131-39..
18. Kelly, G. Clinical Applications of N-acetylcystein. *Med Rev* 1998; 3(2): 114-127.
19. Gebara KS, Matiolo G. Relação da hiperhomocisteinemia com a doença cardiovascular e a doença de Alzheimer. *Rev Bras Nutr Clin* 2006; 2(3): 239-43.
20. Waterlow JC. Nutrición y crecimiento. In: Waterlow, JC. *Malnutrición protéico-energética*. Washington, D.C.: OPS 1996; 230-60.
21. NCHS (National Center For Health Statistics). Growth curves for children birth-18 years. United States Department of Health, Education and Welfare, Publication 1997; 7.
22. Global database on child growth and malnutrition. Program of nutrition family and reproductive health. Geneva: WHO 1997; 276.
23. Assis AMO. Condições de vida, saúde e nutrição na infância em Salvador. Brasília : INAN, Salvador : UFBA/Escola de Nutrição/Instituto de Saúde Coletiva 2000 ; 22-24.
24. Valois S. Repercussão do Consumo dos Sucos de maçã e uva verde na evolução clínica de crianças com diarreia aguda. 2003. 96 f. Tese (Mestrado em Medicina) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2003.
25. Waitzberg DL, Caiaffa WT, Correia M.I. Hospital malnutrition: The brazilian national survey (IBRANUTRI): A study of 4000 patients. *Nutrition* 2001; 17: 573-80.

26. Abreu SM, Taddei JAAC, Colugnati FAB, Cury MCF. Evolução nutricional de crianças internadas nas unidades de clínica e cirurgia pediátrica de hospital público. Rev Paul Pediatr 2004; 22: 221-20.