raZyEie

Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes

Publicación Científica de la Asociación Argentina de Zoonosis

Buenos Aires • Volumen XII • N.º 1 • Octubre de 2018

Número especial: ***Síndrome Urémico Hemolítico***

Dr. Carlos Gianantonio

ISSN 1851-3638
(En línea) ISSN 2346-8858

Asociación Argentina de Zoonosis

CIENCIA EN TU VIDA

CONICET

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas

/CONICETDialoga

conicet.gov.ar

Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes
ISSN 1851-3638

Buenos Aires. Volumen XII Nº 1 Octubre de 2018

raZyEie

Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes

Publicación científica cuatrimestral de la Asociación Argentina de Zoonosis

Dr. Carlos Gianantonio

La *Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes* (raZyEie) forma parte de la Asociación Argentina de Editories Biomédicos y es indizada por la Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC Data Bases) y por LATINDEX

Secretaría de Redacción:
Asociación Argentina de Zoonosis: Chile 1856 (1227) CABA
www.aazoonosis.org.ar

Registro de Propiedad Privada: DNDA Nº 5234826

Impreso por: IDEOGRAFICA SERVICIOS EDITORIALES
Perón 935 (1038) C.A.B.A. • ideografica1988@gmail.com.ar

Tirada: 2.00 ejemplares.

Comité Editorial

Directores Editoriales

Dr. Alfredo Seijo †
Hospital Muñiz - Ciudad de Buenos Aires - Argentina

Dr. Pablo Martino
Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires - Argentina

Dr. Ricardo Rodríguez
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - Buenos Aires

Editores Asociados

Lic. Marcelo Abril
Fundación Mundo Sano - Buenos Aires - Argentina

Dra. Marina Khoury
Comité de Docencia e Investigación Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari - Buenos Aires - Argentina

Dra. Marta Rivas
Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas ANLIS "Dr. C. G. Malbrán" - Ciudad de Buenos Aires

Asistente Editorial

Lic. Karina Veliz
Asociación Argentina de Zoonosis
Ciudad de Buenos Aires - Argentina

Secretaría de redacción *on line*

Dr. Sergio Giamperetti
Hospital Muñiz
Ciudad de Buenos Aires - Argentina

Secretario de Relaciones Institucionales

Dr. Gabriel Capitelli
Relaciones Internacionales Universidad de Buenos Aires - CABA

Consejo Editorial

Argentina

Dr. Miguel A. Basombrío
Universidad Nacional de Salta (UNSA) - Salta

Dr. Juan Basualdo Farjat
Facultad de Ciencias Médicas Universidad Nacional de La Plata - Buenos Aires

Dr. Jorge Bolpe
Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires - Azul

Dra. Bibiana Briguega
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Buenos Aires - Argentina

Dr. Marcelo Corti
Hospital Muñiz - Ciudad de Buenos Aires

Dra. Sabrina Domené
Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular - Ciudad de Buenos Aires

Dr. Ricardo Durlach
Hospital Alemán - Ciudad de Buenos Aires

Dra. Delia Enría
Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui" - Pergamino - Pcia. Buenos Aires

Lic. Manuel Osvaldo Espinosa
Fundación Mundo Sano - Ciudad de Buenos Aires

Dr. Amadeo Esposto
Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de La Plata - Pcia. de Buenos Aires

Dr. Jorge Gorodner
Académico de Medicina; Instituto de Medicina Regional. Universidad Nacional del Noreste - Corrientes

Dr. Olindo Martino
Academia Nacional de Medicina - Buenos Aires

Dr. Ramón Noseda
Laboratorio de Azul - Provincia de Buenos Aires

Dr. Domingo Palmero
Hospital Muñiz - Ciudad de Buenos Aires

Dr. Alberto Parma
Universidad Nacional del Centro. Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología (CIC) Tandil - Buenos Aires

Dr. Daniel Salomón
Instituto Nacional de Medicina Tropical - Misiones

Dr. Luis Samartino
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - Buenos Aires

Dr. Alejandro Schudel
Fundación PROSAIA - Ciudad de Buenos Aires

Dra. Cristina Salomón
Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo - Mendoza

Dr. Eduardo Zerba
Centro de Investigación en Plagas e Insecticidas (CIPEIN). CITEFA-CONICET

Del Exterior

Dr. Juan Arbiza
Facultad de Ciencias - Montevideo - Uruguay

Dr. Joan A. Cayla i Buqueras
Agencia de Salud Pública de Barcelona - España

Dr. Cesar Cabezas
Instituto Nacional de Salud - Perú

Dr. José Guillermo Estrada Franco
División Medicina. Universidad de Texas - EE.UU.

Dr. Eduardo Gotuzzo
Instituto de Medicina Tropical "Alexander von Humboldt", Universidad Peruana Cayetano Heredia - Perú

Dr. Marcelo Gottschalk
Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Montreal - Canadá

Dra. María Guadalupe Guzmán
Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" de la Habana - Cuba

Dr. Yoshihisa Haschiguchi
Universidad de Kochi - Japón

Dr. Dionisio José Herrera Guibert
Director, Red de Programas de Formación en Epidemiología de Campo y Salud Pública (TEPHINET) EE. UU.

Dr. Alvaro Hilinki
Medicina Tropical e Infectología. Facultad de Ciencias Médicas de Santos - Brasil

Dr. James Le Duc
Galveston National Laboratory. Departamento de Medicina. Universidad de Texas -EE.UU.

Dr. Santiago Mas Coma (España)
Facultad de Farmacia. Universidad de Valencia - España

Dr. Christopher Paddock
Infectious Diseases Pathology Branch. Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta. EE.UU.

Dr. Hector Ratti Jaeggli
Academia Nacional de Medicina del Paraguay

Dr. Eric Martínez Torres
Miembro del Tribunal Permanente de Infectología y Medicina Tropical de la Comisión. Nacional de Grados Científicos y miembro del Grupo Internacional Estrategia de Gestión Integrada-Dengue de la OPS y del Grupo de expertos de Dengue del TDR/OMS - Cuba

Dr. Pedro F. C. Vasconcelos
Instituto Evandro Chagas (IEC). WHOCC - Brasil

ÍNDICE

■■ *Editoriales*

Ricardo Durlach y Pablo Martino 4

Fernando Goldbaum 5

■■ *Artículos Originales*

▮ Abordaje de diarrea sanguinolenta en Pediatría

Andrea Exeni 6

▮ Diagnóstico de *Escherichia Coli* productor de toxina Shiga en pacientes con síndrome urémico hemolítico. Estudio de contactos

Laura F. Alconcher 8

▮ Situación regional, epidemiología e impacto de STEC-SUH

Paula A. Coccia 11

▮ Diagnóstico de las enfermedades asociadas a *Escherichia coli* productor de toxina Shiga

Marta Rivas 15

▮ Hacia una inmunoterapia anti-STEC: desarrollo de un producto anti-toxina Shiga seguro, eficaz y de amplio espectro. Nuevo enfoque terapéutico

Yanina Hiriart, Romina Pardo, Lucas Bukata, Constanza Lauché, Luciana Muñoz, Mariana Colonna, Fernando Goldbaum, Ventura Simonovich, Paula Scibona, Waldo Belloso, Hugo Ortega, Santiago Sanguineti, Vanesa Zylberman 22

ISSN 1851-3638
RAZyEIE *2018; 12(1):* 4

Actuar en la interfase ambiente, animal y hombre es un desafío, pero eliminar el riesgo del contacto con animales no es posible. Sin embargo, hay recomendaciones para minimizar las enfermedades asociadas.

La implicancia de las zoonosis debe ser tomada en forma integral: investigación, información evidenciada, publicación y difusión para actualizar a los responsables de las intervenciones en el cuidado de "una salud" *("only one health").* El objetivo común será minimizar el riesgo a la transmisión y la contaminación de los alimentos por patógenos entéricos.

El Simposio y la edición de este suplemento de la *Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes*, es la contribución invalorable de Mundo Sano a la actualización del SUH, una enfermedad que está esperando que nuestros investigadores logren el arma para neutralizar la toxina que la produce.

El Simposio, todo una labor mancomunada académico-industrial entre la AAZ y Mundo Sano, fue una gran suceso científico. Prueba de ello fue el marco de un auditorio colmado por profesionales de un amplio rango multidisciplinario que quedaron impresionados por la calidad de las presentaciones. Es nuestra intención ofrecer aquí una fiel redacción de sus contenidos y un panorama general de sus conclusiones.

Asimismo, el Simposio reunió a las últimas generaciones de investigadores jóvenes y esto, por sí mismo, representa una plataforma promisoria analítica para futuros desarrollos.

Es crucial para el avance del conocimiento en este tema, la participación de expertos en *marketing* y empresas afines, como Mundo Sano, para dar continuidad al evento replicándolo anualmente.

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), en los últimos años, el 70% de las nuevas enfermedades en humanos tuvieron origen animal. Más de 200 enfermedades actualmente se transmiten a través de la comida y dejan 420.000 personas muertas al año.

Los avances en el conocimiento de la patogénesis, la epidemiología, los factores que contribuyen a la diseminación y los factores de riesgo de las enfermedades zoonóticas le dan vida a nuestra Asociación.

Si observamos la producción científica como un todo general, hoy sabemos que la Microbiología es uno de los campos más prolíficos en publicación global de artículos y citaciones, pero con gran preeminencia de Europa y de Estados Unidos. Según las distintas redes del conocimiento, esta tendencia parece, probablemente, correlacionada con el alto producto bruto interno de los países del primer mundo.

Esto realza el desafío de construir desarrollos científicos particularmente en patologías regionales, como el SUH, a partir de estrategias entre instituciones como las nuestras.

En este contexto, la Asociación Argentina de Zoonosis, desde 1989, asumió el compromiso de promover la salud pública en medio de la crisis ecológica mundial y el impacto en el medio ambiente que condiciona las enfermedades del hombre y los animales. Esto quedó plasmado durante el reciente II Congreso Internacional y IX Congreso Argentino de Zoonosis bajo el lema "Alimentos y Zoonosis: Desafíos del Siglo XXI".

Ricardo Durlach y Pablo Martino

Editorial

ISSN 1851-3638
RAZyEIE *2018; 12(1):* 5

Argentina es un país con un desarrollo considerable en Salud Pública, con excelentes profesionales y técnicos de la Salud (bioquímicos, farmacéuticos, enfermeros, etc.).

Sin embargo, contamos con el triste privilegio de ser el país donde más impacto tiene el Síndrome Urémico Hemolítico.

Aunque no están del todo dilucidadas las causas, se cree que el fenómeno se debe en gran parte a la virulencia de las cepas de STEC circulantes en nuestro país *(ver artículo de Marta Rivas)*.

El Simposio "STEC y SUH: un nuevo enfoque diagnóstico y terapéutico" organizado por la Asociación Argentina de Zoonosis y Fundación Mundo Sano mostró las potencialidades que tiene Argentina para resolver este problema: el trabajo y la experiencia de décadas de profesionales argentinos (encabezados por el Dr. Gianantonio) que describieron y luchan diariamente contra esta enfermedad y la investigación biomédica, la cual puede aportar a la solución de problemas graves como el SUH.

Las Dras. Coccia, Exeni y Alconcher mostraron en forma muy clara y precisa cual es el impacto del SUH en Argentina, el abordaje clínico y epidemiológico de los contactos.

La Dra. Rivas nos brindó un completo panorama sobre el diagnostico de STEC, y finalmente el Dr. Santiago Sanguineti nos mostró los avances de Inmunova para el desarrollo de un producto para la prevención del SUH.

Este evento nos muestra que con un esfuerzo mancomunado de la comunidad de médicos, bioquímicos y biotecnólogos es posible superar este problema y convertirlo en una oportunidad para el desarrollo del país.

Este número especial intenta reflejar esa esperanza, con el ánimo de movilizar a nuestra comunidad para que se cumpla.

Fernando Goldbaum
Investigador Superior de CONICET
Director Científico de Inmunova SA

Artículo original

ISSN 1851-3638
RAZyEIE 2018; 12(1): 6-7

Abordaje de diarrea sanguinolenta en Pediatría

Andrea Exeni*

En la Argentina, donde el síndrome urémico hemolítico (SUH) es endémico, el paciente pediátrico que presenta diarrea sanguinolenta debe ser abordado tomando en cuenta fundamentalmente un diagnóstico diferencial. Deben descartarse otras etiologías de diarrea con sangre, como las infecciones virales (rotavirus, adenovirus), bacterianas (*Escherichia coli* enteroinvasiva; *Shigella flexneri*, *S. boydii* y *S. sonnei*; *Salmonella sp.*; *Yersinia sp.*; *Campylobacter jejuni*) y parasitarias (*Entamoeba histolytica*).

El SUH causado por *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) se transmite fundamentalmente por alimentos contaminados o que han sufrido la pérdida de cadena de frío, como productos cárnicos y lácteos no pasteurizados, frutas y verduras. También lo provoca la ingestión de aguas servidas, la contaminación cruzada entre alimentos y el contagio de persona a persona, en caso de portadores asintomáticos. En edades pediátricas, las visitas a granjas y lugares donde hay contacto con ganado vacuno implican riesgo.

La mayor incidencia de SUH se presenta en menores de 5 años, pero fundamentalmente de 2 a 4 años. No hay diferencia significativa entre ambos sexos.

La diarrea sanguinolenta de un paciente pediátrico debe ser caracterizada por su expresión clínica —aguda, invasiva, persistente, etc.— y el estado de hidratación del niño. Se deben registrar los antecedentes alimentarios, la administración previa de antibióticos y la epidemiologia familiar con sus comorbilidades.

Los estudios de laboratorio en pacientes con diarrea sanguinolenta incluyen el examen en fresco de la materia fecal, para investigar una reacción inflamatoria con más de 5 leucocitos por campo y la presencia de hematíes. Se debe indicar la tinción de Gram para *Campylobacter jejuni* y se debe realizar un coprocultivo en Agar MacConkey sorbitol o un medio cromogénico. Si corresponde, se deben realizar estudios virológicos para adenovirus y rotavirus. En todos los casos se debe solicitar orina completa en busca de macrohematuria (presente en el 20% de los casos), microhematuria (presente en el 100% de los casos) y sedimento inflamatorio con leucocituria y piocituria.

Los pacientes con orina patológica y compromiso del estado general deben ser estudiados con análisis de sangre que incluyan: hemograma (anemia hemolítica y plaquetopenia), láctico deshidrogenasa (elevada), evaluación de la función renal (aumento de urea y creatinina), del medio interno (acidosis metabólica, hiponatremia, hiperkalemia), del metabolismo fosfocálcico (hipocalcemia, hiperfosfatemia), ácido úrico (elevado); en ocasiones los pacientes presentan aumento de enzimas hepáticas y pancreáticas.

Desde el punto de vista clínico, en pacientes con diarrea con sangre debemos:

1. Asegurar su hidratación adecuada para evitar un componente prerrenal y la falla renal intrínseca, propia del SUH en la etapa de diarrea.
   El daño vascular y las alteraciones protrombóticas que determinan la isquemia renal ocurren durante la etapa previa al desarrollo del SUH. Es prioritario asegurar un aporte adecuado de líquidos a los niños con sospecha o confirmación de infección por *Escherichia coli* productora de toxina Shiga.
   Estudios demostraron que la administración endovenosa de solución fisiológica con el objetivo de mantener expandida la volemia durante la fase prodrómica redujo la incidencia de formas oligoanúricas de SUH. Por el contrario, los pacientes que se internaron deshidratados requirieron diálisis en forma significativamente más frecuente y tuvieron un periodo oligoanúrico más prolongado que los normohidratados.
2. Evitar el uso de antibióticos. En aquellos pacientes con posible infección por *E. coli* productora de toxina Shiga el uso de antibióticos no es efectivo y está desaconsejado. Algunos estudios *in vitro* muestran el efecto nocivo de trimetroprima, quinolonas y furazolidona, que aumentarían la producción de toxina Shiga de *E. coli* O157:H7, presumiblemente por el aumento de lisis bacteriana y la liberación de toxinas. También se vinculó al metronidazol, los betalactámicos y la azitromicina con riesgo aumentado de presentar SUH.

* Jefa del Servicio de Nefrología Infantil, Departamento Materno Infantil, Hospital Universitario Austral.

Recibido: 13-12-2016
Aceptado: 20-07-2017

El tratamiento antibiótico sí puede considerarse bien indicado en la disentería febril no provocada por *E. coli* productora de toxina Shiga, en los casos moderados a severos de diarrea del viajero y en pacientes con diarrea bacteriana comprobada por coprocultivo.

3. Evitar el uso de antiespasmódicos y opioides. La acción sobre la motilidad intestinal hace que aumente el tiempo de permanencia de las bacterias en el tracto digestivo, hecho que favorece la absorción de toxinas. En un estudio retrospectivo, con 278 pacientes, el uso de drogas anticolinérgicas y narcóticas se asoció con un riesgo aumentado de desarrollar SUH, y en otro estudio, con 91 pacientes, aumentó el riesgo de disfunción del sistema nervioso central. Por estos motivos no deben utilizarse drogas antiespasmódicas en pacientes con sospecha o confirmación de SUH. En aquellos casos con diarrea sanguinolenta y presencia de toxina Shiga entre 2 y 14 días del inicio de la diarrea, se debe considerar que aproximadamente el 6% de los pacientes desarrollará SUH. En la actualidad no hay estrategias que puedan evitar, con certeza, que un paciente con toxina Shiga positiva desarrolle SUH, lo cual obliga a realizar controles frecuentes para detectar a aquel paciente que desarrolla SUH (orina completa cada 48 horas, alternando con laboratorio en sangre a evaluar en cada paciente), a valorar el tiempo de persistencia de la *E. coli* patógena en materia fecal, dada la posibilidad de transmisión intrafamiliar y contactos del paciente. En el caso particular de pacientes que usan pañales, está contraindicado volver a la guardería hasta que 2 coprocultivos den negativos.

Bibliografía

- Ake J, Jelacic S, Ciol M *et al*. "Relative nephroprotection during *Escherichia coli* O157:H7 infections: association with intravenous volume expansion", *Pediatrics*, 2005; 115 (6): e673-e680.
- Chandler WL, Jelacic S, Boster DR *et al.* "Prothrombotic coagulation abnormalities preceding the hemolytic-uremic syndrome", *N Engl J Med*, 2002; 346 (1): 23-32.
- Hickey C, Beattie T, Cowieson J *et al*. "Early volume expansion during diarrhea and relative nephroprotection during subsequent hemolytic uremic syndrome", *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2011, 165 (10): 884-9.
- Balestracci A, Martin SM, Toledo I, Alvarado C & Wainsztein RE. "Dehydration at admission increased the need for dialysis in hemolytic uremic syndrome children", *Pediatr Nephrol*, 2012; 27 (8): 1407-10.
- Safdar N, Said A, Gangnon R & Maki DG. "Risk of hemolytic uremic syndrome after antibiotic treatment of *E. coli* O157:H7 enteriritis: a meta-analysis", *JAMA*, 2002, 208: 996-1001.
- Wong G, Jelacic S, Habeeb R, Watkins SL & Tarr PI. "The risk of the hemolytic uremic syndrome after antibiotic treatment of *E.coli* O157:H7 infections", *N Engl J Med*, 2000, 42: 1930-36.
- Wong CS, Mooney JC, Brandt JR *et al*. "Risk factors for the hemolytic uremic syndrome in children infected with *Escherichia coli* O157:H7: a multivariable analysis", *Clin Infect Dis*, 2012, 55 (1): 33.
- Afazani A, Beltramino D, Bruno M *et al*. "Diarreas agudas en la infancia. Actualización sobre criterios de diagnóstico y tratamiento". Consenso Nacional, Sociedad Argentina de Pediatría.

Artículo original

ISSN 1851-3638
RAZyEIE 2018; 12(1): 8-10

Diagnóstico de *Escherichia Coli* productora de toxina Shiga en pacientes con síndrome urémico hemolítico. Estudio de contactos

Laura F. Alconcher*

Introducción

El síndrome urémico hemolítico (SUH) se caracteriza por una tríada diagnóstica: anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia y distintos grados de compromiso agudo de la función renal. En la Argentina su forma de presentación es endémica, con una mediana de casos anuales notificados para el período 2011-2015 de 323 y una tasa de 8,5 casos cada 100.000 menores de 5 años[1]. Es la primera causa de insuficiencia renal aguda, responsable del 9% de los trasplantes renales[2]. En 1964, el doctor Carlos Gianantonio publicó las características clínicas de la enfermedad asociada a diarrea e introdujo la diálisis peritoneal para el tratamiento de la insuficiencia renal aguda[3]. En 1983, Karmali demostró la asociación de SUH con la infección por cepas de *Escherichia coli* productoras de toxina Shiga (Shiga toxin-producing *Escherichia coli*; STEC, por sus siglas en inglés)[4].

La presencia de STEC puede confirmarse mediante diversos métodos: 1) detección de los genes Stx1 y Stx2 por reacción en cadena de la polimerasa (PCR); 2) aislamiento de STEC O157 y no O157; 3) detección de Stx libre en materia fecal (MF) por citotoxicidad específica en células Vero; y 4) detección de anticuerpos antilipopolisacáridos (antiLPS) serogrupo-específicos para O157, O145 y O121 por glyco-iELISA. Este último método comenzó a utilizarse en nuestro país en el año 2010 e incrementó la detección de STEC en los pacientes con SUH del 40 al 65%[5].

En un país donde la enfermedad es endémica, como es caso del nuestro, el control epidemiológico es primordial. La enfermedad se transmite a través de la ingesta de alimentos contaminados con la bacteria, por contacto directo con el ganado y/o por contacto directo con el paciente. De ahí que el estudio de los contactos cercanos —entendiendo por los estos a aquellos con contacto mayor a 4 horas, 5 días a la semana— sea de fundamental importancia para el control epidemiológico de la enfermedad.

Asimismo, en 2007 la doctora Marta Rivas recomendó la no reincorporación de los pacientes a jardines de infantes y/o colegios hasta no tener 2 coprocultivos negativos separados por 48 horas[6].

La mayoría de los trabajos que describen el tiempo de eliminación de STEC están hechos sobre pacientes con diarrea y casos aislados de SUH, excepto el trabajo de Alemania posterior al brote del 2011[7]. En este la mediana del tiempo de eliminación de STEC en los pacientes que desarrollaron SUH fue de 13 a 14 días, pero se trató de otro tipo de *E. coli*, la O104:H4, quizá con un comportamiento diferente de la predominante en Argentina, que es la *E. coli* O157:H7. Si bien tener 2 coprocultivos negativos previo al reingreso escolar es lo deseable, muchas veces esta práctica no está al alcance de todos los centros. Aún no se conoce el tiempo de eliminación promedio ni su IC 95%; saberlo sería un dato muy útil.

En junio de 2010, en el Hospital Interzonal General de Agudos Dr. José Penna de Bahía Blanca (HIG Penna) se comenzó a realizar la búsqueda de los genes Stx1, Stx2 y rfbO157 por PCR en MF de los pacientes y sus contactos cercanos.

Se analizaron los datos registrados correspondientes al período comprendido entre junio de 2010 y diciembre de 2016, con los siguientes objetivos:

1) determinar el porcentaje de pacientes con SUH STEC positivos durante ese período en el HIG Penna;
2) analizar cuál fue el método que permitió confirmar el diagnóstico;
3) describir los serotipos detectados;
4) determinar el porcentaje de contactos positivos; y
5) estimar el tiempo de eliminación de STEC.

Resultados

Entre junio de 2010 y diciembre de 2016 se atendieron 83 pacientes con SUH. De ellos, 54 (65%) fueron mujeres y su edad media era de 36 meses (DS 23,9 meses). Dos pacientes fueron excluidos del análisis, pues no se estudiaron por ningún método. La infección por STEC se confirmó en 54 pacientes (67,5%). En el HIG Penna de Bahía Blanca se realizó la búsqueda de los genes Stx1, Stx2 y rfbO157 por PCR en MF de los pacientes y los contactos. El resto de los métodos de diagnóstico en MF y suero fueron realizados en el Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas Dr. Carlos G. Malbrán.

* Jefa de la Unidad de Nefrología Pediátrica del Hospital Interzonal General Dr José Penna, Bahía Blanca.
laura.alconcher.la@gmail.com

Recibido: 13-12-2016
Aceptado: 20-07-2017

El diagnóstico se realizó exclusivamente por PCR de la MF en 26 pacientes (48%), exclusivamente por anticuerpos antiLPS en 8 (15%) y en uno solo por Stx libre en MF. En el 35% de los pacientes (19 de 54) el diagnóstico se hizo por más de un método (Figura 1). La realización de PCR en MF en el hospital ha permitido el estudio más precoz de los pacientes —los resultados se obtuvieron en 48 horas, aproximadamente— y posibilitó el diagnóstico etiológico en 44 de 54 pacientes positivos (81%).

El serotipo aislado más frecuente fue O157, en 38 pacientes (70%). De 15 no O157, 9 fueron O145, 2 O121 y en 4 no se logró determinar el serotipo. En un paciente solo se detectó Stx libre en MF (Figura 2).

El método con mayor rendimiento diagnóstico fue la búsqueda de anticuerpos antiLPS, que resultó positiva en el 80% (16 de 20) de los sueros enviados al Instituto Malbrán. Le siguió en orden la PCR en MF, que resultó positiva en el 57% de las muestras estudiadas (44 positivos de 77) y, por último, la búsqueda de Stx libre en MF, con 27% de positividad (16 de 59).

En total se estudiaron 240 contactos cercanos de los cuales 29 (12%) resultaron positivos; 10 de los 29 (34%) contactos positivos estaban en edad pediátrica y 17 eran adultos. Un paciente pediátrico evolucionó a SUH. Dos de los contactos eran perros (Figura 3). Fueron 6 los pacientes con todos los métodos negativos que tuvieron contactos positivos. Si bien no fue posible asegurar que el STEC detectado en el contacto haya sido el responsable del SUH del paciente, es probable que lo haya sido, dado que en nuestro hospital la prevalencia de diarrea por STEC es muy baja (1,8%) y la coincidencia del serotipo entre pacientes STEC positivos y contactos positivos fue del 83%. De esta manera, el estudio de los contactos no solo serviría para el control epidemiológico de la

Figura 1. Método que confirmó el diagnóstico

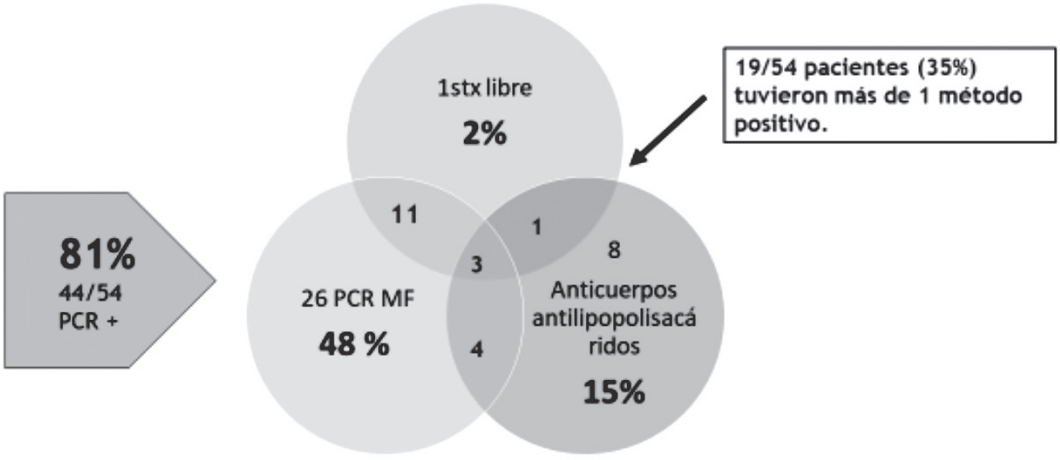


Figura 2. Serotipos aislados

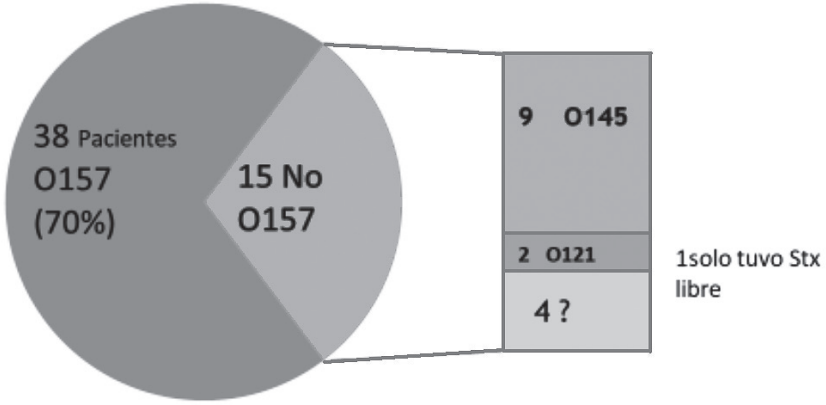
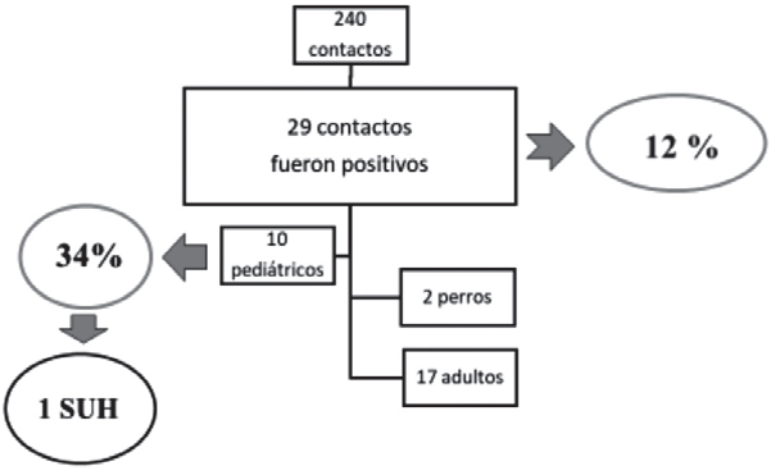


Figura 3. Porcentaje de contactos positivos



enfermedad sino también, probablemente, para confirmar la etiología.

El tiempo de eliminación de STEC fue estudiado en 23 pacientes. La media de tiempo de eliminación fue de 9,8 días, y la mediana, de 10 días (IC 95%: 8,25-11,39).

Conclusiones

- STEC se confirmó en el 67,5% de los pacientes.
- El 81% de los diagnósticos se hizo con PCR de MF.
- El 35% de los pacientes tuvo más de un método positivo.
- En casi las tres cuartas partes de los pacientes el serotipo aislado fue O157.
- El 12% de los contactos estudiados fue positivo y más de un tercio era contacto pediátrico.
- La media de tiempo de eliminación de STEC fue de 9,8 días, y la mediana, de 10 días (IC 95%: 8,25-11,39).

Agradecimientos

Al Dr. Lucas Lucarelli, nefrólogo pediatra de la Unidad de Nefrología Pediátrica del HIG Penna; a la bioquímica Verónica Arias, encargada de realizar las PCR en dicho hospital; y a la Dra. Marta Rivas, del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas Dr. Carlos G. Malbrán.

Bibliografía

1. Ministerio de Salud Presidencia de la Nación. *Boletín Integrado de Vigilancia*, N.º 327, SE 37, septiembre de 2016 [https://bit.ly/2P1P3MA].
2. Sistema Nacional de Información de Procuración y Trasplante de la República Argentina. Documentación y consultas online. Reporte de pacientes inscriptos en lista de espera [www.sintra.incucai.gov.ar].
3. Gianantonio C, Vitacco M, Mendilaharzu F, Rutty A & Mendilaharzu J. "The hemolytic-uremic syndrome", *J Pediat*, 1964, 64: 478-491.
4. Karmali MA, Steele BT, Petric M & Lim C. "Sporadic cases of haemolytic-uraemic Syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools", *Lancet,* 1983; 1: 619-623.
5. Ibídem ant.
6. Rivas M. "Epidemiología del síndrome urémico hemolítico en Argentina. Situación actual e innovaciones diagnósticas", Jornada de Síndrome Urémico Hemolítico Homenaje al Dr. Carlos A. Gianantonio, Buenos Aires, 19 de agosto de 2016 [https://bit.ly/2ReDKCr].
7. Miliwebsky E, Deza N, Chinen I *et al*. "Prolonged fecal shedding of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* among children attending day-care centers in Argentina", *Revista Argentina de Microbiología*, 2007; 39: 90-92.
8. Vonberg R, Höhle M, Aepfelbacher M *et al*. "Duration of fecal shedding of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 in patients infected during the 2011 outbreak in Germany: a multicenter study", *Clinical Infectious Diseases*, 2013; 56 (8): 1132-40.

Artículo original

ISSN 1851-3638
RAZyEIE 2018; 12(1): 11-14

Situación regional, epidemiología e impacto de STEC-SUH

Paula A. Coccia*

Resumen
El síndrome urémico hemolítico (SUH) continúa siendo un problema de salud importante en la Argentina que, en el 90% de los casos, se produce por la infección de *Escherichia coli*, variedad enterohemorrágica productora de toxina Shiga (Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, STEC, por sus siglas en inglés).
La tasa de incidencia es variable, pero en la Argentina la incidencia anual es de entre 10 y 12 casos cada 100.000 niños menores de 5 años de edad; es la tasa mundial más alta reportada. Alrededor de 350 casos nuevos se reportan anualmente en nuestro país. La mortalidad de la enfermedad es baja (menor al 5%), y la principal causa de muerte es el compromiso del sistema nervioso central. Luego del período agudo de la enfermedad, el 70% de los pacientes se recupera por completo. Sin embargo, aproximadamente un 4% queda con alguna secuela neurológica y un 30% con algún grado de compromiso renal: insuficiencia renal crónica con filtrado glomerular menor a 80 ml/minuto, hipertensión arterial o proteinuria.
La presencia de deshidratación al momento de ingreso al hospital y la duración del período de anuria en la etapa aguda son los marcadores más importantes que predicen la gravedad del compromiso renal inicial y la posibilidad de daño renal crónico a largo plazo.

Introducción

El síndrome urémico hemolítico (SUH) se define clínicamente por la tríada de trombocitopenia, anemia hemolítica microangiopática e insuficiencia renal aguda, y se caracteriza por la presencia de microangiopatía trombótica en los estudios anatomopatológicos.

En 1964, el doctor Carlos Gianantonio publicó una serie de casos en niños argentinos y realizó la descripción completa de los aspectos clínicos y la evolución de este síndrome[1].

La sobrevida del SUH mejoró con la diálisis peritoneal intermitente en la fase aguda y el trasplante renal en la fase crónica[2]. Sin embargo, continúa siendo un problema importante de salud en la Argentina.

En el 90% de los casos, el SUH se produce por la infección de la *Escherichia coli* variedad enterohemorrágica productora de toxina Shiga, es decir que se trata de una entidad infectocontagiosa y se denomina SUH típico.

Las cepas de STEC se encuentran altamente diseminadas en nuestro país. Son capaces de sobrevivir y persistir a través del tiempo en diferentes fuentes y reservorios. La transmisión ocurre a través de la vía fecal-oral, frecuentemente a través de la ingestión de agua, alimentos u objetos contaminados o contacto directo con personas o animales infectados.[3, 4] El reservorio natural más importante de STEC es el ganado bovino, con prevalencias muy variables pero que pueden alcanzar valores superiores al 40%. También se han reportado infecciones en otros animales domésticos, en animales silvestres y en aves. La mayoría de los animales son portadores asintomáticos. Además, STEC tiene la capacidad de multiplicarse y sobrevivir por largos períodos en nichos ambientales como fuentes de agua, y se ha postulado que la diseminación entre animales podría ocurrir también a través de insectos (moscas, cucarachas, etc.) que actuarían como vectores mecánicos para su transporte[4,5].

En nuestro país, la transmisión de persona a persona por vía oral-fecal podría tener un rol destacado en la elevada incidencia de SUH. La excreción de bacterias del serotipo O157:H7 efectuada por el ganado bovino y la prevalencia de contaminación de los productos derivados de estos animales ocurren mayoritariamente durante los meses cálidos, período coincidente con la mayor frecuencia de casos humanos[4,5].

Situación epidemiológica en la República Argentina

Si bien tasa de incidencia es variable, en la Argentin, la incidencia anual se ubica entre 10 y 12 casos cada 100.000 niños menores de 5 años; es la tasa mundial más alta reportada[6] (Figura 1).

Entre 2010 y 2016 se reportaron entre 350 y 400 nuevos casos de SUH típico por año. El promedio de casos para el período fue de 3746.

Durante 2016, el 40% de los casos notificados se concentró en el grupo de niños entre los 2 y los 4 años, seguidos por el grupo de 1 año con el 29% de los casos notificados. El grupo de edad más afectado es el de 1 año, con casi 14 casos cada 100.000 niños de esa edad[6] (Figura 2). La distribución de los casos presenta un predominio femenino, con un 59%[6].

* Servicio de Nefrología Pediátrica. Hospital Italiano de Buenos Aires
paula.coccia@hospitalitaliano.org.ar

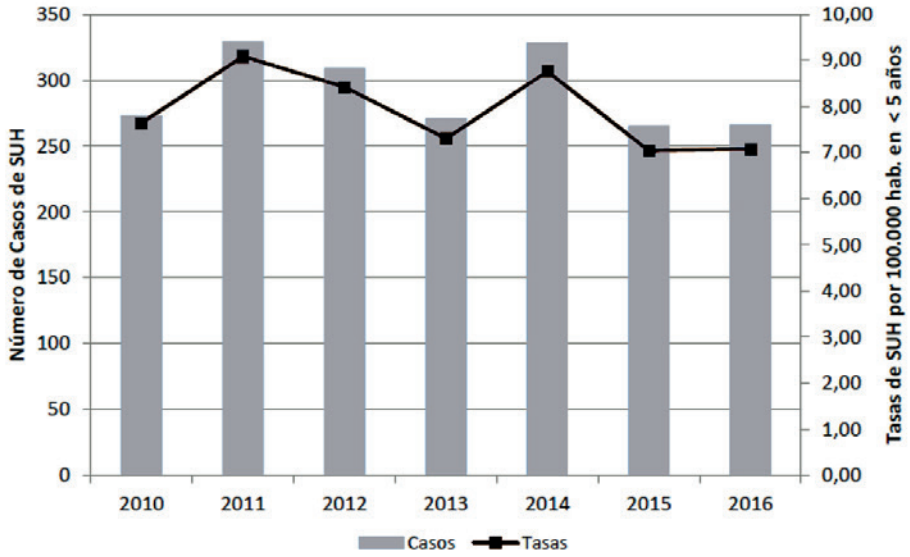
Recibido: 13-12-2016
Aceptado: 20-07-2017

Secuelas y mortalidad por SUH típico

Aproximadamente el 70% de los pacientes que presentan SUH por STEC se recupera sin secuelas. Sin embargo, el 30% persiste con algún tipo de daño o compromiso renal, expresado fundamentalmente por proteinuria, hipertensión arterial o caída de filtración glomerular. Alrededor del 4% padecerá alguna secuela neurológica.

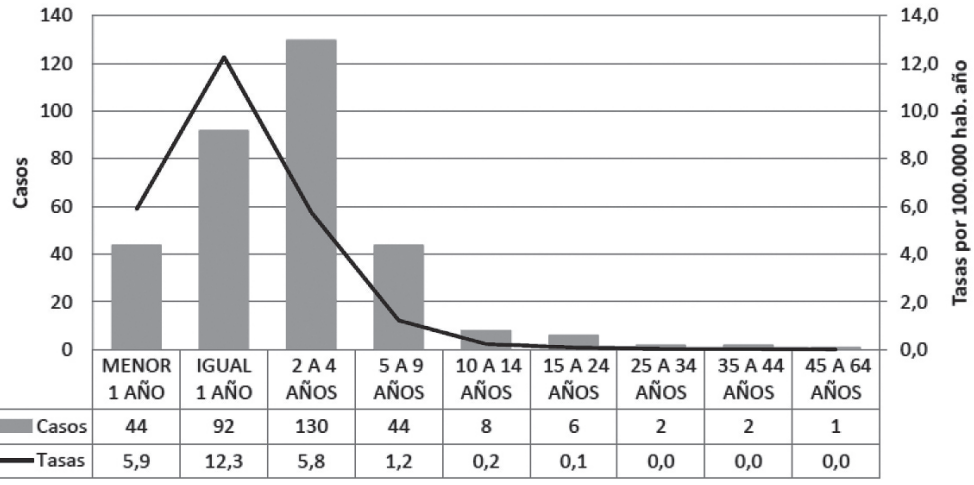
La mortalidad de esta enfermedad ha disminuido durante las últimas décadas y, en la actualidad, es menor al 5%. Según el Sistema Argentino Nacional de Vigilancia Epidemiológica, la mediana de los fallecidos por año durante el período comprendido entre 2006 y 2014 fue de 9,5 casos[7] (Figura 3).

Figura 1. Casos y tasa de SUH en Argentina, 2006-2016



La tasa de incidencia anual en la Argentina es de 10 y 12 casos cada 100.000 niños menores de 5 años.

Figura 2. Distribución de los casos de SUH notificados según grupo de edad. Argentina, año 2016



	MENOR 1 AÑO	IGUAL 1 AÑO	2 A 4 AÑOS	5 A 9 AÑOS	10 A 14 AÑOS	15 A 24 AÑOS	25 A 34 AÑOS	35 A 44 AÑOS	45 A 64 AÑOS
Casos	44	92	130	44	8	6	2	2	1
Tasas	5,9	12,3	5,8	1,2	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0

Durante 2016, el 40% de los casos notificados se concentra en el grupo entre los 2 y 4 años, seguidos por el grupo de 1 año, con el 29% de los casos notificados.

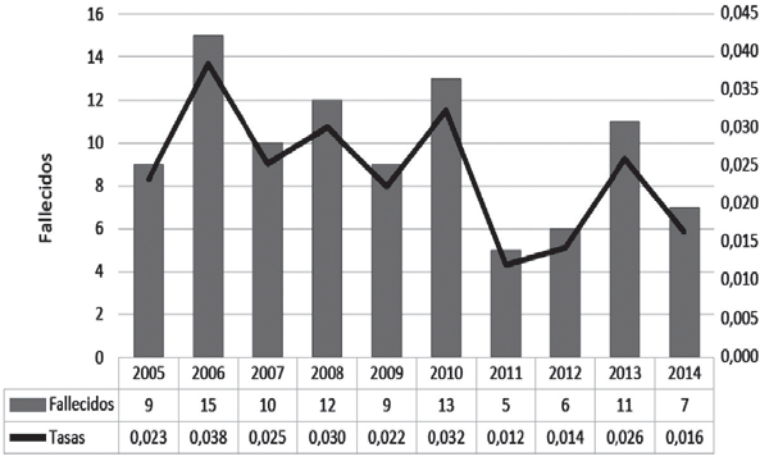
En la serie analizada, el mayor número de muertes por SUH se registró en 2006 (15 casos, de lo cual deriva una tasa de 0,038 casos fallecidos cada 100.000 habitantes) y el menor número correspondió a 2011 (5 casos)[7].

En cuanto a la distribución de la mortalidad por grupo de edad, se destaca que el 66% de los casos se concentra en los menores de 5 años. Se observa además que la tasa de mortalidad por SUH más elevada se encuentra en la población de 1 año, con 0,29 casos cada 100.000 habitantes, seguida por el grupo de 2 a 4 años, con 0,177 (Figura 4).

En un estudio multicéntrico, observacional, retrospectivo y transversal reciente, que incluyó a 466 pacientes menores de 18 años internados, entre 2005 y 2016, con SUH por STEC, con un promedio de edad de 2,5 años, la mortalidad fue del 3,65%, y el compromiso del sistema nervioso central fue la principal causa de muerte[8].

El compromiso del sistema nervioso central, la colitis hemorrágica severa y factores tales como deshidratación, recuento alto de leucocitos, hematocrito o hemoglobina elevados al ingreso, hiponatremia, así como infecciones respiratorias previas han sido asociados con el riesgo de muerte.[8-11]

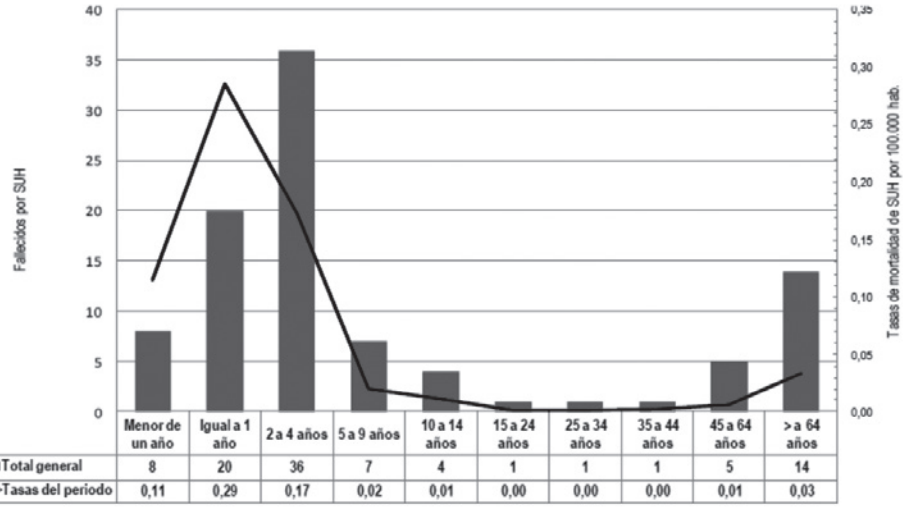
Figura 3. SUH: mortalidad



	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Fallecidos	9	15	10	12	9	13	5	6	11	7
Tasas	0,023	0,038	0,025	0,030	0,022	0,032	0,012	0,014	0,026	0,016

Casos y tasas de mortalidad con diagnóstico de SUH según año (por 100.000 hab.). Argentina, período 2005-2014 (N = 97).

Figura 4. Mortalidad con diagnóstico de SUH según grupo de edad



	Menor de un año	Igual a 1 año	2 a 4 años	5 a 9 años	10 a 14 años	15 a 24 años	25 a 34 años	35 a 44 años	45 a 64 años	> a 64 años
Total general	8	20	36	7	4	1	1	1	5	14
Tasas del período	0,11	0,29	0,17	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,03

Casos y tasas de mortalidad con diagnóstico de SUH según grupo de edad 2005-2014.N=97.

Luego del período agudo de la enfermedad, el 70% de los pacientes se recupera por completo. Sin embargo, aproximadamente el 30% de los niños persiste con algún grado de compromiso renal: insuficiencia renal crónica con filtrado glomerular menor a 80 ml/minuto, hipertensión arterial o proteinuria[12].

La presencia de deshidratación al momento de ingreso al hospital y la duración del período de anuria en la etapa aguda son los marcadores más importantes que predicen la gravedad del compromiso renal inicial y la posibilidad de daño renal crónico a largo plazo.[10,13,14]

A lo largo del tiempo, estos pacientes presentan progresión de la enfermedad renal con empeoramiento de la función en el transcurso de las décadas subsiguientes[12]. Aproximadamente el 7% de los pacientes menores de 18 años, actualmente inscriptos en lista de espera para trasplante renal, presenta SUH como etiología de ingreso, según el Sistema Nacional de Información de Procuración y Trasplante de la República Argentina (SINTRA)[15].

Conclusiones

El SUH típico continúa siendo un problema significativo de salud pública en la Argentina, con tasas de incidencia muy por encima de las del resto del mundo. El Sistema Nacional de Vigilancia cobra un rol de vital importancia para conocer el comportamiento de esta enfermedad a lo largo del tiempo, la detección precoz y el alerta, en caso de brotes, así como para prevenir su diseminación. Sin embargo, a pesar de todos los esfuerzos realizados en el ámbito nacional y aun con el mayor conocimiento que existe con relación a la fisiopatología de la enfermedad y su agente causal, no se ha logrado mejorar la situación.

La implementación de campañas informativas en la población sobre este grave problema, la correcta hidratación de los pacientes durante la etapa diarreica de la enfermedad, la mejora en los controles de calidad de los alimentos de consumo y el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas durante la infección por STEC para prevenir el SUH son pilares fundamentales para lograr el control de esta grave patología en el futuro.

Bibliografía

1. Gianantonio C, Vitacco M, Mendilaharzu F, Rutty A & Mendilaharzu J. “The hemolytic-uremic syndrome”, *J Pediat,* 1964; 64: 478-491.
2. Spizzirri FD, Rahman RC, Bibiloni N, Ruscasso JD & Amoreo OR. “Childhood hemolytic uremic syndrome in Argentina: long-term follow-up and prognostic features”, *Pediatr Nephrol,* 1997; 11: 156-160.
3. Rivas M *et al*. “Epidemiología del síndrome urémico hemolítico en Argentina. Diagnóstico del agente etiológico, reservorios y vías de transmisión”, *Medicina,* 2006; 66 (supl 3): 27-32.
4. Rivas M *et al*. Diarrheagenic *Escherichia coli* in Argentina, in Pathogenic *Escherichia coli* in Latin America, Alfredo G. Torres (ed.), 2010, Bentham Science, pp. 142-161.
5. Rivas M, Sosa-Estani S, Rangel J *et al*. “Risk Factors for Sporadic Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* Infections in Children, Argentina”, *Emerg Infect Dis,* 2008; 14: 763-371.
6. Ministerio de Salud, Presidencia de la Nación. Boletín Integrado de Vigilancia, N.º 342, SE 1, enero de 2017 [https://bit.ly/2P2zjco].
7. Ministerio de Salud, Presidencia de la Nación. *Boletín Integrado de Vigilancia*, N.º 328, SE 38, septiembre de 2016 [https://bit.ly/2zISzWX].
8. Alconcher LF, Coccia PA, Suarez ADC *et al*. “Hyponatremia: a new predictor of mortality in patients with Shiga toxin-producing *Escherichia coli* Hemolytic Uremic Syndrome”, *Pediatr Nephrol,* 2018; 33: 1791-98.
9. Mody RK, Gu W, Griffin PM, Jones TF *et al*. “Postdiarrheal hemolytic uremic syndrome in United States children: clinical spectrum and predictors of in-hospital death”, *J Pediatr,* 2015; 166: 1022-29.
10. Ardissino G, Daccò V, Testa S *et al*. “Hemoconcentration: a major risk factor for neurological involvement in hemolytic uremic syndrome”, *Pediatr Nephrol,* 2015; 30 (2): 345-52.
11. Rahman RC, Cobeñas CJ, Drut R *et al*. “Hemorrhagic colitis in postdiarrheal hemolytic uremic syndrome: retrospective analysis of 54 children”, *Pediatr Nephrol,* 2012; 27: 229-33.
12. Rosales A, Hofer J, Zimmerhackl LB *et al*. “Need for long-term follow-up in enterohemorrhagic *Escherichia coli*-associated hemolytic uremic syndrome due to late-emerging sequelae”, *Clin Infect Dis,* 2012; 54 (10): 1413-21.
13. Oakes RS, Kirkham JK, Nelson RD & Siegler RL. “Duration of oliguria and anuria as predictors of chronic renal-related sequelae in post-diarrheal hemolytic uremic syndrome”, *Pediatr Nephrol,* 2008; 23 (8): 1303-8.
14. Balestracci A, Martin SM, Toledo I, Alvarado C & Wainsztein RE. “Dehydration at admission increased the need for dialysis in hemolytic uremic syndrome children”, *Pediatr Nephrol,* 2012; 27: 1407-10.
15. Sistema Nacional de Información de Procuración y Trasplante de la República Argentina. Documentación y consultas online. Reporte de pacientes inscriptos en lista de espera [www.sintra.incucai.gov.ar].

Artículo original

ISSN 1851-3638
RAZyEIE 2018; 12(1): 15-21

Diagnóstico de las enfermedades asociadas a *Escherichia coli* productor de toxina Shiga

Marta Rivas*

Resumen

Escherichia coli productor de toxina Shiga es un patógeno zoonótico transmitido por alimentos y agua, que puede causar infecciones humanas que van desde una portación asintomática y diarrea con o sin sangre, hasta colitis hemorrágica (CH) y síndrome urémico hemolítico (SUH). Las cepas pertenecen a un gran número de serotipos, y O157:H7 es el más frecuentemente asociado a grandes brotes y casos esporádicos de CH y SUH. Los avances en el conocimiento de la patogénesis microbiana, fisiopatología de las enfermedades asociadas, epidemiología y factores de riesgo han contribuido al desarrollo de distintas estrategias para prevenir la contaminación de alimentos y del medioambiente, y por consiguiente la transmisión al hombre. Sin embargo, la prevención es difícil debido al amplio espectro de fuentes y de vías de transmisión, así como por la eficacia limitada de las diferentes intervenciones utilizadas. En los últimos años ha surgido un nuevo escenario de riesgo debido a la evolución bacteriana que dio lugar a la aparición de clones O157 hipervirulentos de distribución mundial, y de otras cepas STEC con combinaciones inusuales de factores de virulencia, como O104:H4.

El diagnóstico rápido, sensible y oportuno es fundamental para: a) asegurar el correcto manejo del paciente; b) instaurar el tratamiento adecuado; y c) iniciar las investigaciones epidemiológicas para prevenir brotes y minimizar la transmisión secundaria. Se han desarrollado también distintos ensayos diagnósticos: (i) citotoxicidad específica en células Vero; (ii) inmunoensayos; (iii) basados en ADN, para detectar Stx y otros factores de virulencia; (iv) secuenciación de genoma completo; (v) glyco-iELISA para detección de anticuerpos anti-O serogrupo-específico.

Palabras clave: *infecciones, STEC, SUH, diagnóstico.*

Abstract

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* is a zoonotic food- and water-borne pathogen that can cause human infections ranging from an asymptomatic carrier and mild diarrhea to hemorrhagic colitis (HC) and hemolytic uremic syndrome (HUS). The strains belong to a large number of serotypes, and O157:H7 is the most frequent serotype associated with large outbreaks and sporadic cases of HC and HUS. Advances on the knowledge of microbial pathogenesis, pathophysiology of associated diseases, epidemiology and risk factors have contributed to the development of different strategies to prevent contamination of food and the environment and, consequently, transmission to humans. However, prevention is difficult due to the broad spectrum of sources and routes of transmission, and the limited effectiveness of the different interventions used. A new risk scenario has emerged in the last years due to the bacterial evolution that gave rise to hypervirulent O157 clones with worldwide distribution, and other STEC strains with unusual combinations of virulence factors, such as O104:H4.

The rapid, sensitive and timely diagnosis of STEC is essential to: a) ensure the correct management of the patient; b) instituting appropriate treatment; and c) initiate epidemiological investigations to prevent outbreaks and minimize secondary transmission. Several diagnostic tests have been developed: (i) specific cytotoxicity on Vero cells; (ii) immunoassays that are commercially available; (iii) DNA-based assays, for Stx and other virulence factors; (iv) whole genome sequence; (v) glyco-iELISA for detection of serogroup-specific anti-O antibodies.

Keywords: *infections, STEC, HUS, diagnosis.*

Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) emergió a finales de la década de 1970 o principios de la de 1980 como una amenaza zoonótica altamente significativa para la salud pública. En 1982 se notificaron dos brotes de diarrea sanguinolenta en Estados Unidos, ambos relacionados con el serotipo O157:H7, no asociado previamente a enfermedad humana[1].

En la actualidad, se sabe que las cepas STEC son una causa importante de morbimortalidad, con pérdida asociada de años de vida y disminución de la calidad de vida relacionada con la salud. Las manifestaciones de la infección van desde una portación asintomática hasta una diarrea con o sin sangre, y cuadros clínicos más severos como la colitis hemorrágica (CH) y el síndrome hemolítico urémico (SUH)[2]. La asociación entre la infección por STEC y la evolución a SUH fue establecida por Karmali *et al* en 1983-1985[3,4].

El SUH es una entidad clínica y anatomopatológica caracterizada por la presentación aguda de daño renal, anemia hemolítica microangiopática y trombocitopenia, que puede afectar otros órganos, como intestino, páncreas, corazón y sistema nervioso central[5]. Recientemente, la definición de SUH ha sido revisada e incluye hemólisis documentada en lugar de anemia, consumo de

* Servicio Fisiopatogenia, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán"
mrivas@anlis.gov.ar

Recibido: 13-12-2016
Aceptado: 20-07-2017

plaquetas en lugar de trombocitopenia y signos de daño renal en lugar de insuficiencia renal[6].

La enfermedad tiene diferentes etiologías y orígenes, que desencadenan una insuficiencia renal aguda que puede resultar en muerte o enfermedad renal terminal (ESRD), condición que reduce la esperanza de vida. La lesión que genera este síndrome se denomina microangiopatía trombótica (MAT), y está caracterizada por lesión endotelial sistémica y trombos plaquetarios en la microcirculación[7].

No existe un tratamiento específico para el SUH, y los pacientes reciben tratamiento de soporte para el desequilibrio del agua, la anemia, la hipertensión y la insuficiencia renal. La frecuencia de pacientes que mueren durante la fase aguda de la enfermedad es del 1 al 2%[8].

Esta enfermedad sindrómica puede presentar dos formas: una típica (SUHt, postdiarreico, [D+]) de etiología infecciosa y de características endemoepidémicas, y una forma atípica no asociada a diarrea (SUHa, [D-]), que representa del 5 al 10% del total de casos, de comienzo insidioso, mala evolución y elevada mortalidad (25% durante la fase aguda). Tiene distintos orígenes, como los siguientes: desregulación de la vía alterna del complemento, deficiencia adquirida de la proteasa de von Willebrand y desórdenes genéticos de ADAMTS13, y secundaria a distintos cuadros como neoplasias, hipertensión arterial, rechazo de trasplante renal, uso de anticonceptivos orales, drogas, embarazo, postparto, entre otros[9].

La cascada de eventos que va desde la infección gastrointestinal hasta la insuficiencia renal es compleja, y la producción de la toxina Shiga (Stx) es el principal factor de virulencia, responsable del daño del endotelio vascular. Se conocen dos tipos, Stx1 y Stx2, y sus variantes. Hasta el presente están descriptas las siguientes variantes: Stx1a, Stx1c, Stx1d, Stx2a, Stx2b, Stx2c, Stx2d, Stx2e, Stx2f y Stx2g[10]. Se ha reportado que cepas productoras de Stx2a, Stx2c o Stx2d son más patógenas que aquellas que producen variantes de Stx1 solas o Stx1/Stx2[11]. Por otro lado, las variantes Stx2e, Stx2f y Stx2g rara vez están implicadas en enfermedad humana. De hecho, Stx2e es responsable de causar la enfermedad de edema de los cerdos, un trastorno neurológico grave, frecuentemente fatal, mientras que Stx2g y Stx2f se han detectado principalmente en reservorios animales[12].

La importancia de Stx en el desarrollo de la enfermedad es incuestionable, sin embargo, una diversidad de factores de virulencia adicionales, incluyendo adhesinas,[13] otras toxinas[14] y proteasas, está implicada en el establecimiento y el mantenimiento de la infección.

La capacidad de colonizar el epitelio intestinal del hospedador se considera un paso esencial en la patogénesis. En esta primera etapa interviene una proteína de membrana externa de 94 kDa, denominada intimina, codificada por el gen eae localizado en la isla de patogenicidad LEE (del inglés, *locus of enterocyte effacement*). Además, este locus codifica un sistema de secreción tipo III (TTSS) y proteínas efectoras responsables de la adherencia íntima de la bacteria a la célula epitelial, la iniciación de las señales de transducción y la desorganización de las microvellosidades con la formación de la lesión A/E (del inglés, *attaching-and-effacing*), lesión patognomónica de las enfermedades relacionadas con STEC[15]. Además, estas cepas portan un repertorio de genes efectores no codificados por LEE (nle), que codifican sustratos translocados de TTSS, que facilitan la persistencia, propagación bacteriana y virulencia de STEC. La presencia de LEE confiere a las cepas una mayor virulencia, pues los serotipos LEE-positivos aparecen más comúnmente asociados a brotes y casos de SUH que los serotipos LEE-negativos. Sin embargo, la presencia de LEE no es esencial para la patogenia, pues se han notificado casos de enfermedad humana grave, incluyendo casos esporádicos de SUH y brotes, asociados a cepas STEC LEE-negativas.

Algunas cepas STEC producen una enterohemolisina (EHEC-Hly), codificada en el gen exhA de un megaplásmido de 90 kb, la cual estaría involucrada en la patogenia. Además, este plásmido porta los factores de virulencia espP (serina proteasa extracelular), katP (catalasa peroxidasa) y etp (sistema de secreción tipo II)[16].

Las cepas STEC que causan infecciones humanas pertenecen a un gran número de serotipos, y O157:H7 es el prototipo de un subgrupo llamado *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), asociada con brotes y casos esporádicos de CH y SUH en muchos países[17-20]. El conocimiento de que más de 400 serotipos de *E. coli* pueden portar los genes Stx ha dado lugar a la denominación más general de este patotipo como STEC. Estudios epidemiológicos realizados en todo el mundo han demostrado que sólo un número reducido de serotipos —como O26:H11, O103:H2, O111:NM, O121:H19 y O145:NM— han sido reconocidos como responsables de la mayoría de los casos de enfermedad humana grave[20,21]. Karmali *et al*[22] clasificaron a las cepas STEC en cinco seropatotipos (A-E) teniendo en cuenta su potencial patogénico y epidémico, su asociación a enfermedades graves en el hombre y su capacidad para producir brotes.

Sin embargo, la utilidad del concepto de seropatotipo cambió dramáticamente en 2011. De mayo a julio de 2011, ocurrió un brote en el norte de Alemania que afectó a personas de distintos países de Europa, Estados Unidos y Canadá, con 3.842 casos de infección, 855 (22,3%) casos de SUH y 53 muertes. La cepa causal fue identificada como *E. coli* O104:H4,[23] la cual presentó un inusual patrón de virulencia que combinaba la producción de Stx2a con una adherencia enteroagregativa, codificada por genes localizados en el plásmido pAA y en el cromosoma de cepas de *E. coli* enteroagregativo (EAEC)[24]. Este nuevo

tipo de EHEC fue designado enteroagregativo-hemorrágico (EAEHEC), ya que compartía marcadores de virulencia de ambos patotipos. Una importante lección aprendida fue que esta cepa carecía de LEE y de los genes nle, por lo cual se postuló la necesidad de incluir en el algoritmo diagnóstico la detección de los genes aggR (del inglés, *activator aggregative adherence regulator gene*) y aaiC (del inglés, *aggR-activated island C*) de EAEC para detectar cepas EAHEC con capacidad de producir CH y SUH[25].

Recientemente, Pianciola *et al.* (2014)[26] han descripto la circulación casi exclusiva, en la provincia del Neuquén, Argentina, de cepas de *E. coli* O157 pertenecientes al clado hipervirulento 8 (> 90%) y la presencia de factores de virulencia putativos en frecuencias más altas que las registradas en otras partes del mundo. Las cepas del clado 8 son responsables de una enfermedad más severa, de progresión rápida y altos porcentajes de hospitalización, que dificultaría el diagnóstico durante la primera fase de diarrea, y el agente etiológico se detectó recién cuando fue establecido el SUH. Posteriormente, el mismo grupo ha demostrado una alta prevalencia de STEC O157 clado 8 en cepas humanas de otras regiones de la Argentina. Este escenario particular podría originarse en una situación similar detectada en el reservorio bovino. Esta homogeneidad en los genotipos STEC O157 detectados en cepas humanas y bovinas contrasta con los resultados reportados en otros países[27].

En la Argentina el SUH postdiarreico es endémico y, desde las primeras descripciones de Gianantonio *et al.*,[28] constituye la primera causa pediátrica de insuficiencia renal aguda y la segunda de insuficiencia renal crónica; es además responsable de alrededor del 9% de los trasplantes renales en niños y adolescentes.

Los datos de las infecciones por STEC se colectaban mediante diferentes estrategias: 1) notificación de casos clínicos de SUH al Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud (SNVS-Módulo C2); notificación obligatoria, inmediata e individualizada según Resolución N.º 346/00; 2) vigilancia centinela (SNVS-Módulo UCSUH) por 25 unidades centinela de SUH, localizadas en 16 provincias; y 3) vigilancia basada en laboratorio (SNVS-Módulo SIVILA).

Desde 2018, la notificación se realiza al Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud (SNVS 2.0), en la Plataforma SISA (Sistema Integrado de Información Sanitaria Argentino). Todos los registros de los sectores involucrados en las acciones de prevención, promoción, investigación y control de los eventos a vigilar, incluyendo la vigilancia centinela, se realizan en una misma plataforma en tiempo real. La notificación comienza por la identificación del ciudadano en el Registro Nacional de las Personas (Renaper). Este sistema integra la información clínica, epidemiológica y del laboratorio.

Existe otra estrategia, la vigilancia molecular a través de la PulseNet de América Latina y El Caribe, realizada por el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR), para monitorear los clones circulantes, detectar cepas emergentes y caracterizar brotes. Se crearon bases de datos nacionales para STEC O157 y no-O157, que incluyen cepas de distinto origen (humano, animal y de alimentos), aisladas desde 1988 hasta el presente.

En el país se notifican aproximadamente 400 casos nuevos por año, y desde 1965 hasta el presente se han acumulado más de 10.000 casos. En el período 2011-2016, la incidencia anual estimada varió entre 7,17 y 9,88 casos por 100.000 niños menores de 5 años. Los niños afectados son menores de 5 años, fundamentalmente entre 6 y 36 meses, aunque se presentan casos en niños mayores, adolescentes y adultos, de ambos sexos. La enfermedad está distribuida en todo el país, aunque la frecuencia es mayor en las provincias del centro y sur durante los meses cálidos, si bien se registran casos durante todo el año[29]. La letalidad en el período agudo es del 1 al 5%. Sin embargo, esta ha disminuido en los últimos años debido al diagnóstico precoz de la enfermedad, a la instauración temprana de diálisis —en casos con oliguria grave o anuria— y al manejo de la anemia hemolítica.

Debido a la importancia que las infecciones asociadas a STEC tienen para la salud pública, el diagnóstico rápido, sensible y oportuno es fundamental para: a) asegurar el correcto manejo del paciente; b) instaurar el tratamiento adecuado; y c) iniciar las investigaciones epidemiológicas para prevenir brotes y minimizar la transmisión secundaria. Se han desarrollado distintos ensayos diagnósticos: i) citotoxicidad específica en células Vero; ii) inmunoensayos (inmunocromatográficos, ELISAs, aglutinación reversa pasiva); iii) basados en ADN, para detectar Stx y otros factores de virulencia (PCR múltiples de punto final, y en tiempo real); iv) glyco-iELISA para detección de anticuerpos anti-O serogrupo-específico[30,31].

1. Ensayo de citotoxicidad específica en células Vero. Las células Vero poseen una alta sensibilidad a las Stx, y el ensayo de citotoxicidad utilizando esta línea celular es considerado la técnica Gold Standard. En su membrana plasmática estas células poseen una alta concentración de receptores Gb3 y Gb4, lo que permite detectar Stx1, Stx2 y sus variantes. Las técnicas diagnósticas en células Vero se utilizan para determinar la producción de Stx por aislamientos bacterianos, detección de Stx libre en materia fecal y detección de anticuerpos anti-Stx en suero del paciente. La neutralización del efecto citotóxico se realiza con anticuerpos monoclonales MAb a-Stx1y MAb a-Stx2. Estas técnicas son laboriosas, lentas y de alto costo, por lo que su uso está restringido a laboratorios de mayor complejidad, fundamentalmente a los laboratorios de referencia[32,33].
2. Inmunoensayos. Algunos EIA comerciales están disponibles para la detección de *E. coli* O157 y/o Stx en

especímenes humanos. Como en general la concentración bacteriana y/o la Stx libre en materia fecal es baja, se recomienda un enriquecimiento previo en medios de cultivo adecuados (16-24 h a 37 ºC) más que el análisis directo. Algunos de estos tests han sido aprobados por la Food and Drug Administration (FDA), y son recomendados por el CDC (Centers for Disease Control and Prevention de Estados Unidos) para su aplicación en laboratorios clínicos34. En general, estos ensayos son rápidos, de 20 minutos a 4 horas (sin considerar el tiempo requerido para el enriquecimiento), dependiendo del formato utilizado. La sensibilidad (>70% al 100%) y la especificidad (>90% al 100%) también son variables, dependiendo del formato y del fabricante[35-41].

Entre ellos se pueden citar los siguientes:

a) Tests inmunocromatográficos:
   1. Singlepath *E. coli* O157 (Merck).
   2. Immunocard STAT! *E. coli* O157 Plus (Meridian).
   3. Duopath Verotoxins (Merck), diferencia Stx1/Stx2.
   4. Immunocard STAT! EHEC (Meridian), diferencia Stx1/Stx2.
   5. Rida Quick Verotoxin/O157 Combi (r-Biopharm), no diferencia Stx.

b) Enzimoinmunoensayos:
   i) Premier EHEC (Meridian), no diferencia Stx.
   ii) ProSpecT Shiga Toxin (Remel), no diferencia Stx.
   iii) RIDASCREEN Verotoxin (r-Biopharm), diferencia Stx1/Stx2.
   iv) Shiga Toxin Quik Chek (TechLab), diferencia Stx1/Stx2.

c) Aglutinación reversa pasiva (RPLA): VTEC Screen/RPLA (Denka Seiken), diferencia Stx1/Stx2.

Los ensayos destacados corresponden a los kits diagnósticos recomendados por el CDC34.

3. Ensayos basados en ADN. Se han desarrollado PCR para la detección de los genes stx1/stx2 y sus variantes, como así también para detección de eae (intimina), ehxA (enterohemolisina) y otros factores de virulencia. También para algunos serogrupos de STEC. La mayoría de las PCR validadas se realizan a partir de colonia aislada, pero se han desarrollado otras PCR para ser utilizadas a partir de materia fecal. Los tiempos requeridos van de algunas horas hasta 24-36 horas si el espécimen clínico debe ser primero cultivado en forma directa o previo enriquecimiento.

   Como ejemplo se pueden citar: a) PCR isotermal; b) PCR múltiples de punto final, y en tiempo real, con presentaciones comerciales de sistemas abiertos por paneles y sistemas cerrados automatizados[31].

4. Secuenciación de genoma completo. Existe un acuerdo internacional para la implementación de la SGC para diagnóstico y tipificación de patógenos de impacto en salud pública, debido fundamentalmente a la mejora de las herramientas bioinformáticas y a la facilidad de su uso en los laboratorios. Sin embargo, la implementación de la SGC implica grandes cambios. Respecto a la tecnología, se necesita equipamiento nuevo en los laboratorios y también para el análisis de las secuencias. Otro hecho importante es el cambio en los algoritmos de diagnóstico que deben ser modificados. Se reconoce que la transición es un gran desafío para los laboratorios de diagnóstico y una preocupación para poder equilibrar los beneficios que representa la aplicación de la SGC y el riesgo de implementar estas nuevas tecnologías demasiado rápido[42].

5. Detección de anticuerpos anti-O. La respuesta inmune humoral al LPS está dominada por anticuerpos contra el lipopolisacárido O. Se han desarrollado glicoproteínas recombinantes utilizando el sistema de N-glicosilación de *Campylobacter jejuni* para generar conjugados O-polisacárido-proteína serogrupo-específicos. Hasta el presente se han desarrollado y validado glicoproteínas recombinantes para los serogrupos O157, O145 y O121, y están en etapa de validación las glicoproteínas para O26, O103 y O111. Estas se utilizan como antígeno de captura en un ELISA indirecto (glyco-iELISA), con buena sensibilidad y especificidad[43].

Los laboratorios clínicos de instituciones públicas y privadas pueden implementar distintas metodologías para la detección de STEC, de acuerdo con su nivel de complejidad. En la *Figura 1* se presenta un algoritmo de análisis y derivación de muestras clínicas.

El LNR para SUH e infecciones por *E. coli* utiliza los siguientes criterios para establecer la infección por STEC: 1) detección de toxina Shiga libre en materia fecal por citotoxicidad específica en células Vero; 2) detección, aislamiento y caracterización de STEC: 2a) tamizaje por mPCR (stx1/stx2/rfbO157), 2b) aislamiento, separación inmunomagnética (SIM) serogrupo-específica, 2c) tipificación: factores de virulencia, biotipo, serotipo, antibiotipo, 2d) subtipificación: PFGE y genotipificación de variantes de Stx1 y Stx2; 3) detección de anticuerpos anti-O por ELISA indirecto con glicoconjugados serogrupo-específicos.

En el período 2011-2016 se detectaron 920 cepas asociadas a infecciones a STEC. De ellas, 459 correspondieron a casos de SUH. Se han identificado múltiples serotipos, siendo O157:H7 el más frecuente (>70%), seguido por O145:NM. La frecuencia de detección de serotipos de STEC se presenta en la *Tabla 1*.

Entre las cepas STEC O157, el genotipo stx2a/stx2c/eae/exhA fue prevalente, detectado en más del 70% de las cepas, seguido por el genotipo stx2a/eae/exhA. Entre las cepas no-O157, los genotipos fueron más diversos, pero el genotipo virulento stx2a/eae/ehxA fue prevalente, identificado en más del 60% de las cepas.

A finales de 2014 se implementó el glyco-iELISA para la detección de anticuerpos anti-O O157, O145 y O121, lo que permitió optimizar el diagnóstico en pacientes con SUHt del 25,2% en 2011 al 69,2% en 2016.

En el período 2011-2016 se detectaron 56 brotes familiares, en jardines de infantes y en la comunidad, 35 por STEC O157 y 21 por STEC no-O157. Estos brotes incluyeron 39 casos de SUH, 25 diarreas sanguinolentas, 14 diarreas no complicadas y 62 contactos asintomáticos. Dos casos de SUH fallecieron. La transmisión persona a persona fue la principal vía identificada.

Conclusiones

Los avances en el conocimiento de la patogénesis de las infecciones asociadas a STEC, de los determinantes de virulencia y factores de riesgo han contribuido al desarrollo de distintas estrategias que intentan prevenir la contaminación de los alimentos y el medioambiente y, por consiguiente, la transmisión a los seres humanos. El uso de nuevas técnicas diagnósticas ha sido útil en estudios de vigilancia, diagnóstico y epidemiológicos, como así también en la detección de genotipos emergentes y en la caracterización genética de cepas STEC hipervirulentas de origen humano y del reservorio animal y ambiental.

Agradecimientos

Al personal del Servicio Fisiopatogenia del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán, por su trabajo y compromiso con el tema.

Figura 1. Algoritmo para la detección de STEC a partir de especímenes clínicos en laboratorios de distinta complejidad

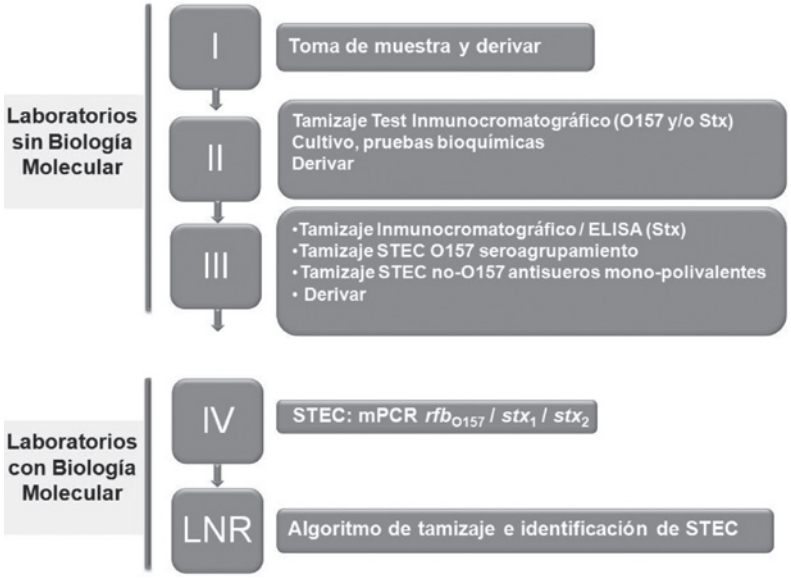


Tabla 1. Frecuencia de serotipos STEC en infecciones humanas y SUH. Argentina 2011-2016

Serotipo	Infecciones humanas (n=920)		SUH (n= 459)	
O157:H7	660	(71,7%)	322	(70,1%)
O145[H25;H28;NM;NT]	157	(17,1%)	91	(19,8%)
O121:H19	26	(2,8%)	18	(3,9%)
O26[H11;NM;NT]	18	(1,9%)	5	(1,1%)
O103[H2;NM]	11	(1,2%)	4	(0,9%)
O111[H8;NM;NT]	5	(0,5%)	1	(0,2%)
O59:H19	4	(0,4%)	4	(0,9%)
ONT[H2;H7;H21;H28;NM]	24	(2,6%)	10	(2,8%)
Otros: O2:NM; O8:H19; O22[H8;H11]; O39:H49; O48:H21; O91:H21; O113:H21; O116:NT; O117:H7; O128:NM; O174:NM	15	(1,6%)	4	(0,9%)

Bibliografía

1. Riley LW, Remis RS, Helgerson SD *et al*. "Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype", *N Engl J Med,* 1983; 308: 681-5.
2. Gyles CL. "Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview", *J Anim Sci,* 2007; 85: E45-E62.
3. Karmali MA, Steele BT, Petric M & Lim C. "Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools", *Lancet, 1983*; i: 619-20.
4. Karmali MA, Petric M, Lim C, Fleming PC, Arbus GS & Lior H. "The association between hemolytic uremic syndrome and infection by verotoxin-producing *Escherichia coli*", *J Infect Dis,* 1985; 151: 775-82.
5. Rivas M, Miliwebsky E, Chinen I, Deza N & Leotta G. "Epidemiología del síndrome urémico hemolítico en Argentina. Diagnóstico del agente etiológico, reservorios y rutas de transmisión", *Medicina (Buenos Aires),* 2006; 66: 27-32.
6. Ardissino G, Possenti I, Tel F, Testa S & Paglialonga F. "Time to change the definition of hemolytic uremic syndrome", *Eur J Intern Med,* 2014; 25 (2): e29.
7. Repetto HA, Rodríguez de Córdoba S, Arrizurieta E, Rivas M, Ibarra C. "Microangiopatía trombótica y Síndrome Hemolítico Urémico", en Aljama Garda *et al*. editores, *Nefrología Clínica*, cuarta edición, Editorial Médica Panamericana, 2014, 351-63.
8. Mele C, Remuzzi G & Noris M. "Hemolytic uremic syndrome", *Semin Immunopathol,* 2014; 36: 399-420.
9. Besbas N, Karpman D, Landau D *et al*. "A classification of hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura and related disorders", *Kidney Int,* 2006; 70: 423-31.
10. Scheutz F, Teel LD, Beutin L *et al*. "Multicenter evaluation of a sequence-based protocol for subtyping Shiga toxins and standardizing Stx nomenclature", *J Clin Microbiol,* 2012; 50: 2951-63.
11. Scheutz F. "Taxonomy meets public health: the case of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*", *Microbiol Spectrum,* 2014; 2 (4): EHEC-0019-2013.
12. Persad AK & LeJeune JT. "Animal reservoirs of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*", *Microbiol Spectrum,* 2014; 2 (4): EHEC-0027-2013.
13. McWilliams BD & Torres AG. "Enterohemorrhagic *Escherichia coli* adhesins", *Microbiol Spectr,* 2014; 2 (3): EHEC-0003-2013.
14. Paton AW & Paton JC. "*Escherichia coli* subtilase cytotoxin", *Toxins,* 2010; 2: 215-28.
15. Franzin FM & Sircili MP. "Locus of enterocyte effacement: A pathogenicity island involved in the virulence of enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* subjected to a complex network of gene regulation", *Bio Med Res Int,* 2015; 534738, doi: 10.1155/2015/534738.
16. Beutin L, Montenegro MA, Orskov I, Orskov F, Prada J, Zimmermann S & Stephan R. "Close association of verotoxin (Shiga-like toxin) production with enterohemolysin production in strains of *Escherichia coli*", *J Clin Microbiol,* 1989; 27: 2559-64.
17. Rivas M, Miliwebsky E, Chinen I *et al*. "Characterization and epidemiologic subtyping of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from hemolytic uremic syndrome and diarrhea cases in Argentina", *Foodborne Pathog Dis,* 2006; 3: 88-96.
18. de Souza RL, Abreu Carvalhaes JT, Sane Nishimura L, de Andrade MC & Cabilio Guth BE. "Hemolytic uremic syndrome in pediatric intensive care units in São Paulo, Brazil", *Open Microbiol,* J 2011; 5: 76-82.
19. Vally H, Hall G, Dyda A, Raupach J, Knope K, Combs B & Desmarchelier P. "Epidemiology of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Australia, 2000-2010", *BMC Public Health,* 2012; 12: 63.
20. Terajima J, Iyoda S, Ohnishi M & Watanabe H. "Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* in Japan", *Microbiol Spectr,* 2014; 2 (5): EHEC-0011-2013.
21. Gould LH, Mody RK, Ong KL *et al*. "Increased recognition of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States during 2000-2010: epidemiologic features and comparison with *E. coli* O157 infections", *Foodborne Pathog Dis,* 2013; 10: 453-60.
22. Karmali MA, Mascarenhas M, Shen S *et al*. "Association of genomic O island 122 of *Escherichia coli* EDL 933 with verocytotoxin-producing *Escherichia coli* seropathotypes that are linked to epidemic and/or serious disease", *J Clin Microbiol,* 2003; 41: 4930-40.
23. Askar M, Faber MS, Frank C *et al*. "Update on the ongoing outbreak of haemolytic uraemic syndrome due to Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) serotype O104, Germany, May 2011", *Euro Surveill*, 2011, 16 (22): pii = 19883 [https://bit.ly/2OuEB3l].
24. Bielaszewska M, Mellmann A, Zhang W, Köck R, Fruth A, Bauwens A, Peters G & Karch H, "Characterization of the *E. coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study", *Lancet Infect Dis,* 2011; 11: 671-6.
25. Beutin L & Martin A. "Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O104:H4 infection in Germany causes a paradigm shift with regard to human pathogenicity of STEC strains", *J Food Prot,* 2012; 75: 408-18.
26. Pianciola L, Chinen I, Mazzeo M *et al*. "Genotypic characterization of *Escherichia coli* O157:H7 strains that cause diarrhea and hemolytic uremic syndrome in Neuquén, Argentina", *Int J Med Microbiol,* 2014; 304: 499-504.
27. Pianciola L, D'Astek BA, Mazzeo M, Chinen I, Masana M & Rivas M. "Genetic features of human and bovine *Escherichia coli* O157:H7 strains isolated in Argentina", *Int J Med Microbiol,* 2016; 306: 123-30.
28. Gianantonio CA, Vitacco M, Mendilaharzu J, Mendilaharzu F & Rutty A. "Acute renal failure in infancy and childhood. Clinical course and treatment of 41 patients", *J Pediatr,* 1962; 61: 660-78.
29. Dirección Nacional de Epidemiología y Análisis de la Situación de Salud: *Boletín Integrado de Vigilancia*, Ministerio de Salud, Presidencia de la Nación, Buenos Aires, N.º 329, SE 39, septiembre de 2016 [https://bit.ly/2RjceDJ].
30. Kehl SC. "Role of the laboratory in the diagnosis of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infections", *J Clin Microbiol,* 2002; 40 (8): 2711-5.
31. Miliwebsky E, Schelotto F, Varela G, Luz D, Chinen I, Piazza RMF. "Human diarrheal infections: diagnosis of diarrheage-

nic *Escherichia coli* pathotypes", en Torres AG ed., *Escherichia coli in the Americas*, Springer International Publishing AG, Switzerland, 2016;pp.343-69.
32. Karmali MA, Petric M, Lim C, Cheung R & Arbus GS. "Sensitive method for detecting low numbers of verotoxin-producing *Escherichia coli* in mixed cultures by use of colony sweeps and polymyxin extraction of verotoxin", *J Clin Microbiol,* 1985; 22: 614-9.
33. Karmali MA. "Infection by verotoxin-producing *Escherichia coli*", *Clin Microbiol Rev,* 1989; 2: 15-37.
34. Gould LH, Bopp C, Strockbine N *et al*. "Recommendations for diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections by clinical laboratories". MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2009; 58 (RR12): 1-14 [https://bit.ly/2O02Uqe].
35. Mackenzie A, Orrbine E, Hyde L et al. "Performance of the ImmunoCard STAT! *E. coli* O157:H7 test for detection of *Escherichia coli* O157:H7 in stools", *J Clin Microbiol,* 2000; 38 (5): 1866-8.
36. Park CH, Kim HJ, Hixon DL & Bubert A. "Evaluation of the Duopath Verotoxin test for detection of Shiga toxins in cultures of human stools", *J Clin Microbiol,* 2003; 41 (6): 2650-3.
37. Gavin PJ, Peterson LR, Pasquariello AC, Blackburn J, Hamming MG, Kuo KJ & Thomson RB Jr. "Evaluation of performance and potential clinical impact of ProSpecT Shiga toxin *Escherichia coli* microplate assay for detection of Shiga toxin-producing *E. coli* in stool samples", *J Clin Microbiol,* 2004; 42 (4): 1652-6.
38. Beutin L, Steinruck H, Krause G, Steege K, Haby S, Hultsch G & Appel B. "Comparative evaluation of the Ridascreen Verotoxin enzyme immunoassay for detection of Shiga-toxin producing strains of *Escherichia coli* (STEC) from food and other sources", *J Appl Microbiol,* 2007; 102: 630-9.
39. Grys TE, Sloan LM, Rosenblatt JE & Patel R. "Rapid and sensitive detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from nonenriched stool specimens by real-time PCR in comparison to enzyme immunoassay and culture", *J Clin Microbiol,* 2009; 47 (7): 2008-12.
40. Willford J, Mills K & Goodridge LD. "Evaluation of three commercially available enzyme-linked immunosorbent assay kits for detection of Shiga toxin", *J Food Prot,* 2009; 72 (4): 741-7.
41. Boone JT, Campbell DE, Dandro AS, Chen L & Herbein JF. "A rapid immunoassay for detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* directly from human fecal samples and its performance in detection of toxin subtypes", *J Clin Microbiol,* 2016; 54: 3056-63.
42. Rivas M, Chinen I & Guth BEC. "Enterohemorrhagic (Shiga toxin-producing) *Escherichia coli*", en Torres AG ed., *Escherichia coli in the Americas*, Springer International Publishing AG, Switzerland, 2016; pp 97-123.
43. Melli LJ, Ciocchini AE, Caillava AJ *et al*. "Serogroup-specific bacterial engineered glycoproteins as novel antigenic targets for diagnosis of Shiga toxin-producing Escherichia coli-associated hemolytic uremic syndrome", *J Clin Microbiol,* 2015; 53: 528-38.

Conflicto de intereses:
la autora declara no tener conflicto de intereses.

Artículo original

ISSN 1851-3638
RAZyEIE 2018; 12(1): 22-28

Hacia una inmunoterapia anti-STEC: desarrollo de un producto antitoxina Shiga seguro, eficaz y de amplio espectro

Yanina Hiriart[a,b], Romina Pardo[a], Lucas Bukata[a], Constanza Lauché[b], Luciana Muñoz[a], Mariana Colonna[a], Fernando Goldbaum[a, b], Ventura Simonovich[c], Paula Scibona[c], Waldo Belloso[c], Hugo Ortega[d], Santiago Sanguineti[a], Vanesa Zylberman[a,b]

Resumen
El síndrome urémico hemolítico (SUH) típico es una enfermedad causada por cepas de *Escherichia coli* productoras de toxina Shiga (STEC). A pesar de tener gran relevancia en nuestro país y en el mundo, el SUH es una enfermedad huérfana que aún no tiene tratamiento específico. Debido al rol fundamental de la toxina Shiga (Stx) en el desarrollo del SUH, este es considerado una toxemia que, como otras toxemias conocidas, podría tratarse con anticuerpos u otras moléculas neutralizantes. Inmunova desarrolló un nuevo tratamiento (INM-004) capaz de neutralizar el efecto tóxico de distintas variantes de Stx con antígenos novedosos obtenidos a partir de la tecnología propia IMC. El tratamiento consiste en fragmentos $F(ab')_2$ provenientes de un antisuero equino cuya eficacia y potencia contra Stx1 y Stx2 se comprobó en diferentes modelos preclínicos. El producto mostró ser seguro en animales; incluso en un esquema de administración en altas dosis repetidas, presentó la farmacocinética descripta para compuestos similares y pudo establecerse una posible ventana terapéutica para una administración adecuada. En su conjunto, los resultados preclínicos obtenidos validaron un estudio clínico de primer uso en humanos que se está realizando en el Hospital Italiano, de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Su finalidad es analizar la seguridad y la farmacocinética del producto en voluntarios adultos sanos. Estos resultados sentarán las bases para la realización del estudio clínico fase II/III en pacientes pediátricos con diagnóstico de infección por STEC. Planificamos comenzar este estudio a principios de 2019.
Palabras clave: *síndrome urémico hemolítico, toxinas Shiga, antisuero, tratamiento.*

Abstract
Typical hemolytic uremic syndrome (HUS) is an orphan disease which is caused by Shiga toxin producing *Escherichia coli* (STEC) strains, with high relevance in our country. Shiga toxin (Stx) is essential for HUS development and therefore, it is considered a toxemic non-bacteremic disorder, which could be treated with antibodies. Inmunova developed a new treatment capable of neutralizing the toxic effect of Stx and its variants, using new immunogens obtained applying the own technology IMC. The treatment consists of $F(ab')_2$ fragments from an equine antiserum whose effectiveness and potency against Stx1 and Stx2 were proved in different preclinical models. The product was shown to be safe in animals. Furthermore, Anti-Stx $F(ab')_2$ pharmacokinetic was as expected as for similar compounds and a therapeutic window for its administration was determined. Altogether, these preclinical results validated the realization of a clinical trial of first use in humans in progress at the Hospital Italiano de Buenos Aires. The aim of this phase I study is to evaluate product's safety and pharmacokinetics in healthy adult volunteers. These results will lay the groundwork for conducting the phase II/III clinical study in pediatric patients with a diagnosis of STEC infection, scheduled to be launched in early 2019.
Keywords: *hemolytic uremic syndrome, Shiga toxin, antiserum, treatment.*

Alternativas terapéuticas desarrolladas contra la toxina Shiga

El síndrome urémico hemolítico (SUH) típico es una grave enfermedad causada por la bacteria *Escherichia coli* productora de toxinas Shiga (STEC). El SUH es considerado una toxemia y podría tratarse con anticuerpos o moléculas neutralizantes del efecto de la toxina Shiga. Hasta el momento no se cuenta con un tratamiento específico, únicamente se realiza tratamiento de sostén. Ante un diagnóstico de infección por STEC, el paciente requiere hospitalización, aplicación de terapia de expansión de volumen para mantener su nivel de hidratación y monitoreo de la progresión a SUH. Los días transcurridos entre la aparición de los síntomas y el desarrollo del síndrome sugieren la existencia de una ventana terapéutica (Figura 1).

En este tiempo la administración de un tratamiento neutralizante de la toxina Shiga podría detener la toxemia, evitar la progresión a SUH y minimizar el daño generado.

Los tratamientos propuestos en los últimos años han desarrollado estrategias orientadas a capturar la toxina secretada durante la colonización bacteriana o liberada al torrente sanguíneo, para evitar la interacción

a. Inmunova SA, CABA
b. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (Conicet)
c. Farmacología Clínica, Hospital Italiano de Buenos Aires
d. Centro de Medicina Comparada, ICIVET-Litoral (UNL-Conicet)

Recibido: 13-12-2016
Aceptado: 20-07-2017

con su receptor específico, el glicoesfingolípido globotriaosilceramida (Gb3), presente en los órganos blanco.

En un estudio multicéntrico controlado, se ensayó la administración oral de análogos de Gb3 (Synsorb-Pk) como tratamiento focalizado a la captura de toxina a nivel intestinal. Se evaluó el efecto terapéutico en niños con diagnóstico de SUH asociado a diarrea. El estudio mostró que los pacientes que recibieron Synsorb-Pk tuvieron una evolución clínica similar que aquellos que no lo recibieron. Esto sugirió que una vez que la toxina se disemina por la circulación sistémica, el impedimento del pasaje de más Stx a nivel de la barrera intestinal no presentaría mayores beneficios[1].

Otra estrategia fue la posibilidad de administrar anticuerpos monoclonales (AcMos) humanizados que neutralicen la Stx a nivel sistémico. Por ejemplo, Shigamab®, de Taro Pharmaceuticals, es una mezcla de dos AcMos dirigidos contra la subunidad A de Stx2 y contra la subunidad B de Stx1. Teijin Pharma ha diseñado un AcMo dirigido contra la subunidad B de Stx2 (Urtoxazumab). Estos anticuerpos han demostrado ser seguros en estudios de fase I realizados en adultos sanos[2, 3].

Sin embargo, hasta el momento no se han reportado datos concluyentes de estudios clínicos de fase II[4].

Anticuerpos policlonales como opción terapéutica

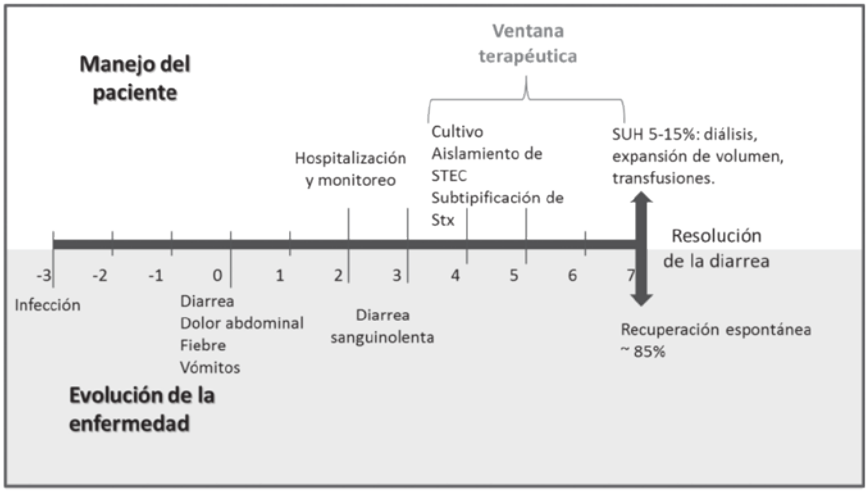
Existen distintas variantes de Stx involucradas en el desarrollo de la enfermedad, por lo tanto, los sueros policlonales resultan una excelente opción para una terapia de amplio espectro. Este tipo de producto reconoce una amplia gama de epítopes, usualmente desarrollan una mayor avidez que los AcMos por sus antígenos afines y también son capaces de reconocer diferentes variantes de patógenos, venenos o toxinas. El uso de anticuerpos policlonales está establecido para el tratamiento de distintas patologías, en particular la exposición al virus de la rabia, las mordeduras de serpientes venenosas y las picaduras de alacranes.

Un ejemplo interesante de la aplicación de sueros policlonales como terapia de amplio espectro lo constituye el tratamiento para el botulismo. BabyBIG fue aprobado en 2003 para tratar el botulismo infantil causado por los tipos A y B.

Es un tratamiento a base de inmunoglobulinas purificadas a partir de donantes humanos inyectados con toxoides (toxinas inactivadas) de diferentes variantes de la neurotoxina. Un estudio clínico realizado durante una década en niños afectados, demostró que BabyBIG redujo significativamente los tiempos de ventilación mecánica y hospitalización.

Además, el tratamiento fue administrado de modo profiláctico a pacientes con un cuadro de presunta intoxicación. La intervención temprana resultó una estrategia exitosa. Sin embargo, la disponibilidad restringida y el costo muy alto de los sueros policlonales humanos favorecieron la implementación de una versión equina para este tratamiento. Así, desde 2013 la FDA (Food and Drug Administration) aprobó el uso del antitoxina

Figura 1. Evolución de la infección con *Escherichia coli* en niños



La infección con E. coli se produce alrededor de 3 días antes del comienzo de los síntomas: fiebre, vómitos, dolor abdominal y diarrea. Luego de 1 a 3 días, la diarrea se vuelve sanguinolenta en un 90% de los casos, lo cual usualmente motiva la primera consulta médica y, en algunos casos, la hospitalización del paciente. El SUH se produce entre 72 y 96 horas posteriores a la aparición de diarrea sanguinolenta. Este período evidencia la existencia de una ventana terapéutica en la cual sería posible intervenir con un tratamiento que evite la progresión a SUH.

botulínica heptavalente BAT (Emergent Biosolutions) para el tratamiento de botulismo. Este producto consiste en la fracción $F(ab')_2$ purificada a partir de las inmunoglobulinas equinas. En líneas generales, este tipo de productos se está aplicando con éxito en varias situaciones clínicas de emergencia.

Nuevo tratamiento para SUH. Desarrollo de un antisuero neutralizante de toxina Shiga

Inmunova es una empresa de biotecnología dedicada a desarrollar productos innovadores en el área de salud. Nuestra tecnología IMC (Immuno MultiCarrier) es una plataforma que puede ser decorada con antígenos de interés a fin de obtener una fuerte respuesta inmune contra ellos. Se consideraron las propiedades de IMC para el diseño de dos quimeras en las que fue posible estabilizar las estructuras pentaméricas de Stx1B y Stx2B en la plataforma IMC (Figura 2).

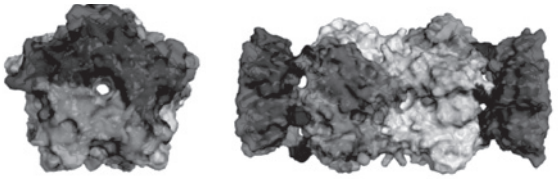
Las quimeras resultantes (IMC-Stx) demostraron, en ratones, la capacidad de inducir una fuerte respuesta inmune humoral en forma duradera. Los anticuerpos producidos protegieron a los animales contra la toxicidad producida por la Stx y neutralizaron a sus variantes en ensayos *in vitro*[5].

Además, al ser transmitidos en forma pasiva, estos anticuerpos protegieron contra el desafío con Stx[6]. Estos resultados indicaron la factibilidad de utilizar a las quimeras IMC-Stx como inmunógenos para el desarrollo de un suero terapéutico contra las toxinas Shiga.

El impacto del SUH en nuestro país y en el mundo impulsó a Inmunova a desarrollar un tratamiento capaz de neutralizar las toxinas producidas por cepas STEC. El producto consiste en la fracción $F(ab')_2$ de las inmunoglobulinas equinas obtenidas a partir de sueros hiperinmunes.

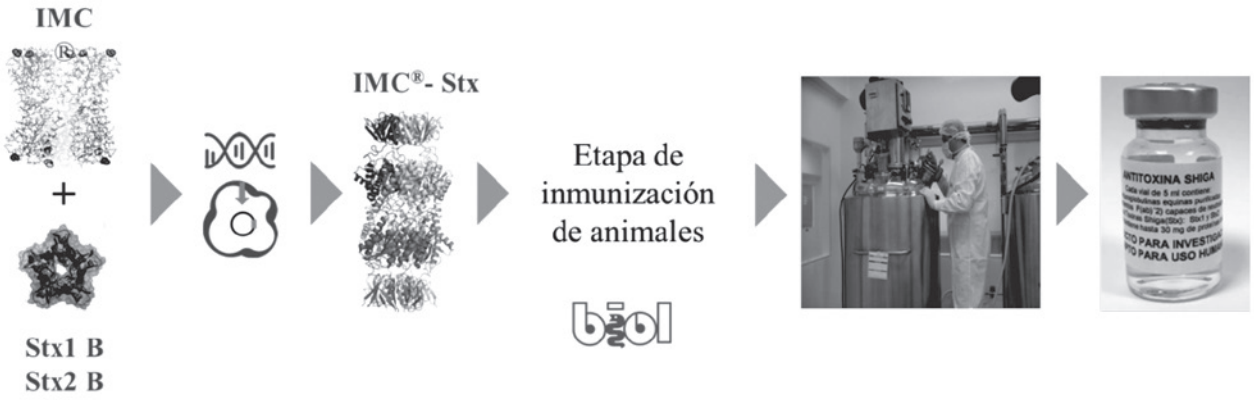
Para la manufactura del antisuero se trabajó de manera conjunta con el Instituto Biológico Argentino SAIC-BIOL. Se utilizaron las quimeras IMC-Stx1B e IMC-Stx2B para inmunizar caballos y obtener sueros hiperinmunes anti-Stx1 y anti-Stx2 de altos títulos (>1/500.000). A partir de las inmunoglobulinas equinas se produjo la fracción $F(ab')_2$ mediante tratamiento con pepsina y posterior purificación y se generó el producto INM-004 lote 3945 (Figura 3).

Figura 2. Modelado molecular de quimeras IMC-Stx2B



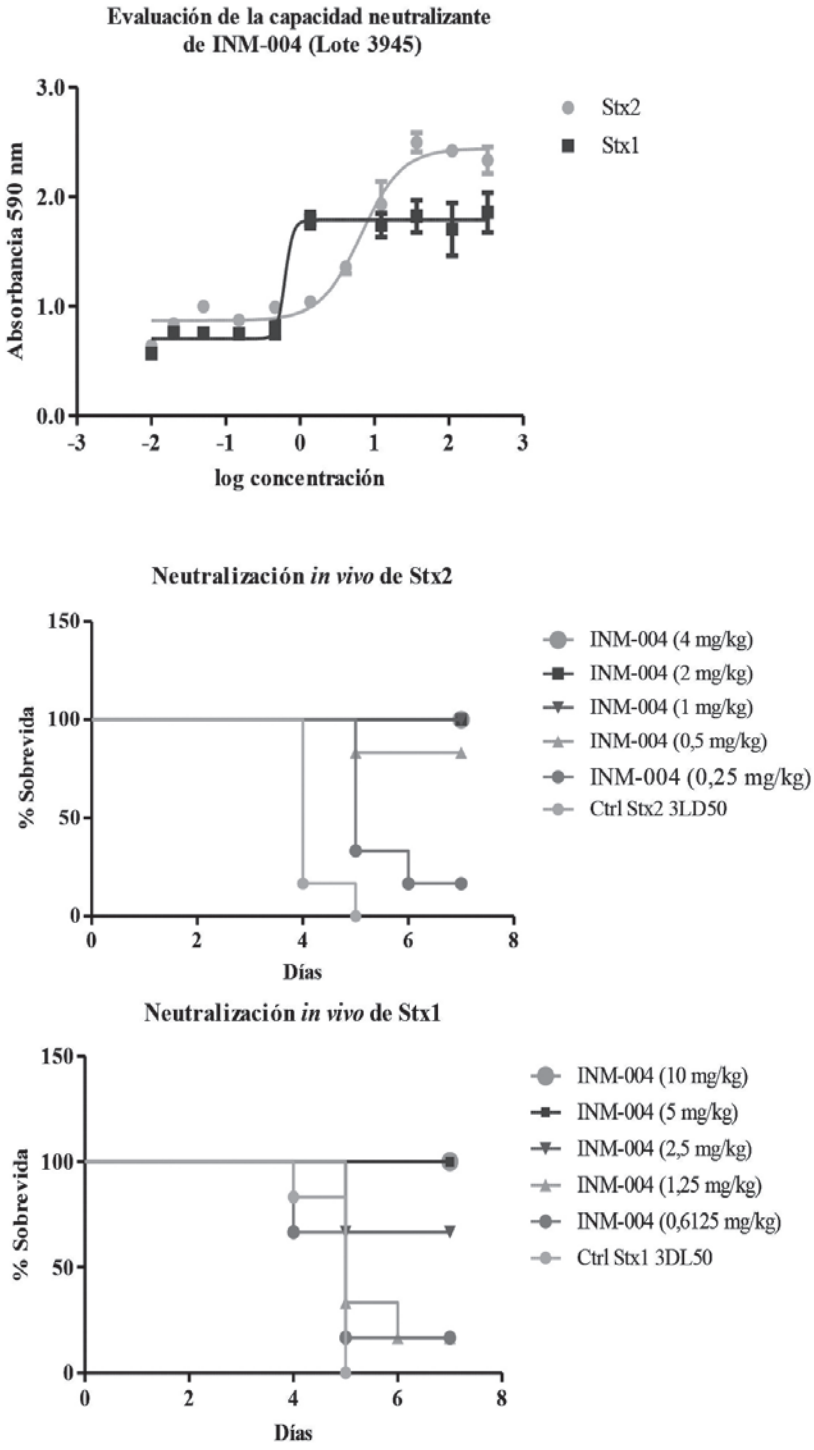
La quimera IMC-Stx2B fue modelada con el programa PyMOL 1.5 (www.pymol.org). Izquierda: Vista frontal de IMC-Stx2B. El pentámero de subunidades B se ensambló sobre el pentámero de IMC sin impedimentos estéricos. Cada subunidad B se muestra con una tonalidad de color rosa y el decámero IMC está en tonalidades gris más claras. Derecha: vista lateral de IMC-Stx2B. El linker decapéptido flexible se muestra tonalidades gris más oscuras.

Figura 3. Proceso productivo de INM-004



El proceso productivo comienza con la purificación de los inmunógenos IMC-Stx2B e IMC-Stx1B en Inmunova, bajo un procedimiento con normas BPL (Buenas Prácticas de Laboratorio). Se establece un plan de inmunización de los caballos y se evalúa la respuesta inmune desarrollada contra Stx1 y Stx2 por ELISA. Una vez completado el plan de inmunización, se produce y purifica la fracción $F(ab')^2$ de las inmunoglobulinas equinas siguiendo un procedimiento BPM (Buenas Prácticas de Manufactura) realizado en BIOL. Para la liberación del lote se realiza un control de calidad de acuerdo con las normativas vigentes que incluye análisis de carga bacteriana, nivel de endotoxinas, potencia, entre otros.

Figura 4. Capacidad neutralizante de toxinas Shiga de INM-004



A. Se evaluó la capacidad neutralizante de ambas toxinas del producto sobre células Vero. Una cantidad de toxina correspondiente a 10CD50 se preincubó 1 h a 37 °C con cantidades decrecientes de producto. Posteriormente las preparaciones se incubaron sobre las células Vero. Al cabo de 48 h se evaluó viabilidad mediante tinción con cristal violeta.
B y **C**. Se determinó la mínima dosis efectiva del producto para Stx2 y Stx1 en ratones. Los animales recibieron una dosis de toxina correspondiente a 3DL50 por vía ip y simultáneamente la dilución de anticuerpo correspondiente por vía endovenosa. Los grupos control recibieron la dosis de toxina utilizada por vía ip y solución salina por vía endovenosa. Se monitoreo la sobrevida de los animales durante 7 días.

Evaluación de la seguridad, potencia y perfil farmacocinético del producto

Se realizaron diversos ensayos destinados a evaluar el perfil farmacocinético y de seguridad del INM-004 en el Centro de Medicina Comparada del Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral, UNL-Conicet. Por medio del ensayo Gold Standard con células Vero se comprobó la eficacia del producto contra Stx1a y Stx2a (figura 4a), además de comprobarse su capacidad para neutralizar distintas variantes de las toxinas relacionadas con el desarrollo de SUH.

Los estudios preclínicos realizados *in vivo* (ratones y conejos) permitieron evaluar la farmacología, la farmacocinética, la eficacia y la seguridad de INM-004. Se utilizó un modelo murino de toxicidad para determinar la dosis mínima efectiva del producto para ambas toxinas, siendo de 1 mg/kg para Stx2a y de 5 mg/kg para Stx1a (figuras 4b y 4c). Se realizaron estudios de cinética a dosis única y a dosis repetidas, en ambas especies. En los estudios de dosis única, el producto mostró una farmacocinética compatible con la correspondiente a compuestos similares, la cual se mantuvo en los estudios de dosis repetidas.

La dosis máxima utilizada en ratones, 116 mg/kg, fue bien tolerada y no se observaron efectos adversos significativos. También se realizaron estudios de toxicidad a dosis única y a dosis repetida en ratones y conejos con el fin de evaluar los efectos del producto INM-004 sobre parámetros clínicos que incluyó la examinación de piel, mucosas, actividad motora y patrones de conducta, junto con parámetros de laboratorio hematológico y bioquímico. En estos estudios no se evidenciaron alteraciones clínicas ni subclínicas significativas asociadas al tratamiento, aun en un esquema de administración repetida de altas dosis.

Adicionalmente, se optimizó un modelo murino para imitar la liberación progresiva de toxina que tiene lugar durante una infección por STEC. Se administró una dosis letal de Stx2 dividida en dosis subletales durante cuatro días consecutivos.

En este modelo, el producto logró rescatar a los animales del efecto tóxico, aun administrado a las 48 horas de haber comenzado con la administración de toxina. De acuerdo con estos resultados, la administración del producto resultaría efectiva incluso luego de la exposición a la Stx y sugiere la existencia de una ventana terapéutica para iniciar el tratamiento.

Para descartar cualquier tipo de interacción del producto INM-004 con tejidos humanos, se realizó un estudio de reactividad cruzada sobre un panel de 34 tejidos provenientes de tres donantes cadavéricos. En este estudio no se evidenció unión específica del producto sobre cualesquiera de los tejidos ensayados.

Perspectivas y planificación para la realización de estudios clínicos

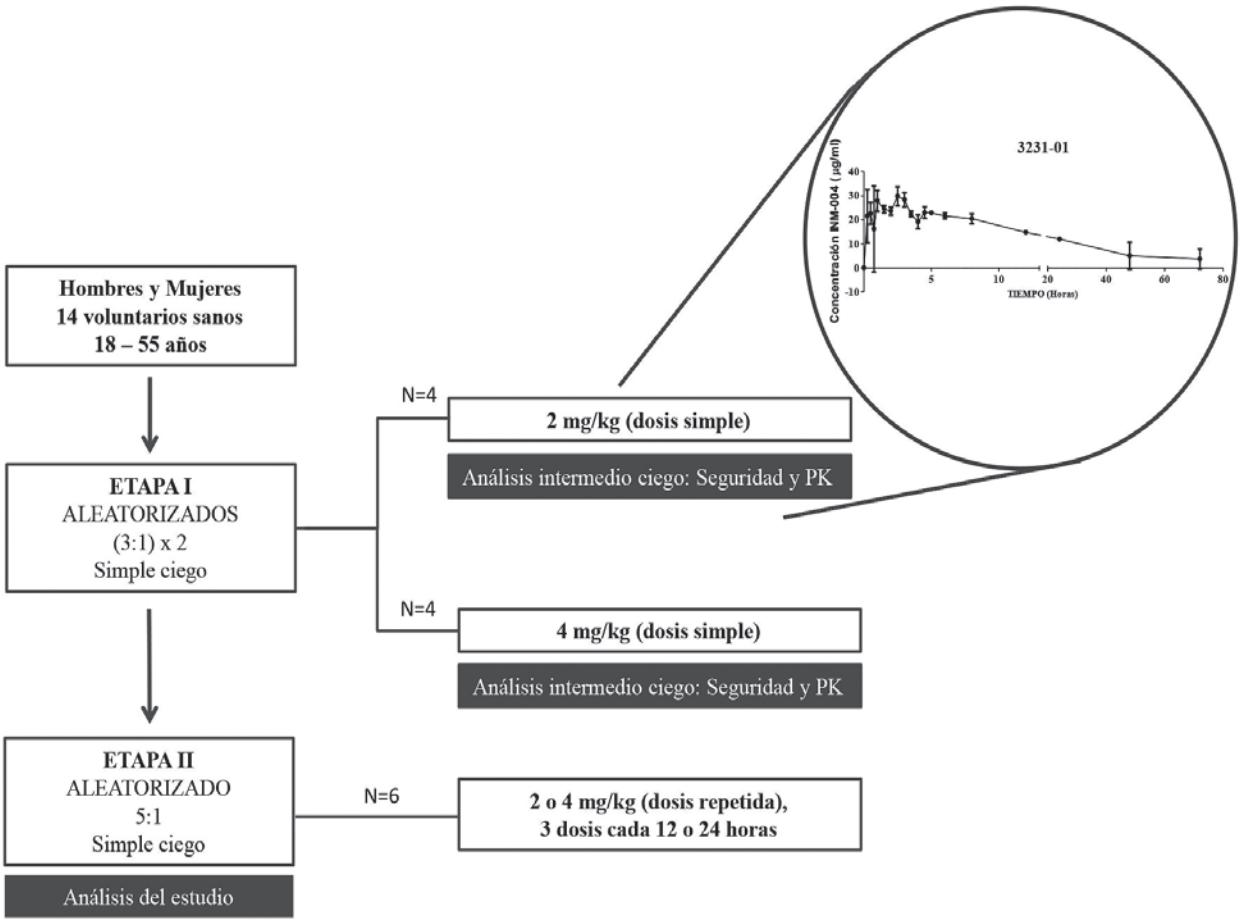
Los resultados del conjunto de estudios preclínicos realizados respaldaron la administración del producto en el contexto clínico. Es por esto que se encuentra en curso un estudio clínico de primer uso en humanos en el cual se enrolarán 14 sujetos adultos voluntarios sanos para evaluar la farmacocinética, seguridad y tolerabilidad del producto INM-004. El estudio es prospectivo, randomizado y controlado con placebo, en dos etapas.

En la primera etapa se usará un diseño de escalamiento de dosis, se comenzará con dosis única y luego, en una segunda etapa, se aplicarán dosis repetidas. En la figura 5 se muestra el diseño del estudio acompañado de la curva concentración-tiempo de los primeros voluntarios de la etapa 1. Los resultados muestran que pudo detectarse el producto en el suero de estos sujetos hasta 72 horas posteriores a su administración.

Finalizado el estudio de fase I, comenzará el estudio clínico dase II/III (previsto para principios de 2019), cuyo objetivo es demostrar eficacia y seguridad del producto para prevenir el desarrollo del SUH en niños infectados por STEC. Para el diseño y la planificación de este estudio hemos establecido contacto con bioquímicos, pediatras y nefrólogos de los principales centros de atención de SUH de nuestro país. En este se incluirán pacientes pediátricos de 2 a 5 años que presenten diarrea sanguinolenta y diagnóstico comprobado de infección por STEC. Se está desarrollando un protocolo de investigación clínica cuyo objetivo, criterios de inclusión y exclusión, así como la definición de los puntos primarios de evaluación, están siendo consensuados con líderes de opinión de la comunidad médica, con expertos del área de diagnóstico en microbiología y con las agencias regulatorias de Argentina, Estados Unidos y Europa.

Un desafío será la capacidad de identificar rápidamente y con exactitud los pacientes infectados con STEC. Hay una estrecha ventana de tiempo para intervenir y prevenir las posibles secuelas relacionadas al SUH. Los pacientes generalmente buscan atención alrededor del día 4 o 5 del inicio de la diarrea, cuando esta comienza a ser sanguinolenta. El síndrome urémico hemolítico suele desarrollarse 72-96 horas después. Por lo tanto, en un ensayo que implica la intervención con un fármaco que neutraliza la toxina, es fundamental el diagnóstico precoz y preciso y estar preparados para intervenir tempranamente. Se está trabajando en la implementación de un test rápido de detección de Stx en materia fecal, validado con el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) del Servicio Fisiopatogenia del Instituto Malbrán. Este método permitiría realizar una primera selección de pacientes potenciales que podrían beneficiarse con este tratamiento. Es importante seguir el algoritmo de tamizaje e identificación de STEC desarro-

Figura 5. Diseño del estudio clínico de Fase I (primer uso en humanos)



Se encuentra en curso un estudio de primer uso en humanos (fase I), en dos etapas, prospectivo, randomizado, controlado con placebo para evaluar seguridad, tolerabilidad y farmacocinética (PK). Se enrolarán 14 voluntarios adultos sanos de entre 18 y 55 años. En la primera etapa se usará un diseño de escalamiento de dosis, comenzando con la administración de una dosis simple de 2 mg/kg para luego aumentarla a 4 mg/kg. Posteriormente, confirmada la seguridad del producto a las dosis estudiadas, se realizará un esquema de dosis repetidas administrando 3 dosis de producto de 2 o 4 mg/kg. Como inset se muestra la farmacocinética del INM-004 en los sujetos que recibieron las dosis evaluadas en la etapa I. El producto pudo detectarse en suero aún 72 horas posteriores a su administración. Los resultados de este estudio serán presentados ante la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) para su evaluación, a fin de solicitar autorización para la realización de un estudio fase II/III en pacientes pediátricos a comenzarse a principios de 2019. Cumplida la planificación prevista, se espera que el producto llegue al mercado en 2020.

llado por el LNR. Estaremos trabajando en conjunto con dicho laboratorio para identificar y validar el adecuado método de diagnóstico precoz y luego implementarlo en los distintos laboratorios de las unidades centinelas.

En conjunto con los criterios de inclusión y exclusión que se establezcan para el protocolo del estudio clínico, se definirá la población de pacientes a la que se podrá administrar el producto. Este se administrará en forma de infusión en una única dosis o en dos dosis diarias de 4 mg/kg.

La realización de un estudio de estas características implica un enorme esfuerzo y compromiso de todos los actores involucrados en el diagnóstico, tratamiento y manejo del SUH, pero tenemos la fuerte convicción de que vale la pena, en pos de obtener una terapia para esta enfermedad de tanto impacto en nuestro país y en el mundo.

Agradecimientos

Servicio Fisiopatogenia INEI-ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán; Instituto Biológico Argentino SAIC-BIOL; Programa para Apoyo a la Innovación en Medicamentos y Productos para la Salud, ANMAT.

Bibliografía

1. Trachtman H, Cnaan A, Christen E *et al*. "Effect of an oral Shiga toxin-binding agent on diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome in children: a randomized controlled trial", *JAMA,* 2003; 290: 1337-44.
2. Dowling TC, Chavaillaz PA, Young DG *et al*. "Phase 1 safety and pharmacokinetic study of chimeric murine-human monoclonal antibody c alpha Stx2 administered intravenously to healthy adult volunteers", *Antimicrob Agents Chemother,* 2005; 49: 1808-12.
3. Bitzan M, Poole R, Mehran M, Sicard E, Brockus C, Thuning-Roberson C & Rivière M. "Safety and pharmacokinetics of chimeric anti-Shiga toxin 1 and anti-Shiga toxin 2 monoclonal antibodies in healthy volunteers", *Antimicrob Agents Chemother,* 2009; 53: 3081-7.
4. López EL, Contrini MM, Glatstein E *et al*. "Safety and pharmacokinetics of urtoxazumab, a humanized monoclonal antibody, against Shiga-like toxin 2 in healthy adults and in pediatric patients infected with Shiga-like toxin-producing Escherichia coli", *Antimicrob Agents Chemother,* 2010; 54: 239-43.
5. Mejias MP, Ghersi G, Craig PO *et al*. "Immunization with a chimera consisting of the B subunit of Shiga toxin type 2 and brucella lumazine synthase confers total protection against Shiga toxins in mice", *J Immunol,* 2013, 191: 2403-11.
6. Mejias MP, Cabrera G, Fernández-Brando RJ *et al*. "Protection of Mice against Shiga Toxin 2 (Stx2)-Associated Damage by Maternal Immunization with a *Brucella* Lumazine Synthase-Stx2 B Subunit Chimera", *Infect Immun*, 2014; 82: 1491-9.

FUNDACIÓN Ciro de Santadina

INVESTIGAR, CAPACITAR, DIFUNDIR Y PREVENIR EL SÍNDROME URÉMICO HEMOLÍTICO.

#SUHayudaSuma

fundacionciro

www.fundacionciro.org.ar

25 AÑOS
1993 2018
CUMPLIMOS
Contribuyendo a la salud
de las personas expuestas
a enfermedades desatendidas.
Mundo Sano
mundosano@mundosano.org
www.mundosano.org