

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León

Facultad de Ciencias Médicas

Carrera de Medicina



Trabajo de Tesis para optar al título de Doctor en Medicina y Cirugía General

Seroprevalencia de anticuerpos contra *E. coli* enterohemorrágica O157 en personas sanas y con diferente grado de daño renal.

Elaborado por:

- Br. Derman Rafael Herrera Leiva.
- Br. Jossimar Aldomaro Medina Altamirano

Tutor:

- Dr. Samuel Vílchez. PhD.
Profesor Titular
Departamento de Microbiología y Parasitología
Facultad de Ciencias Médicas

“A la libertad por la Universidad”

DEDICATORIA

A Dios, porque sin Él, nada sería posible.

A mis padres Oscar Rafael Herrera Leiva y Johana Beatriz Leiva Paiz, quienes siempre demostraron su apoyo y brindaron palabras de aliento para lograr esa meta.

Derman Herrera

A mi familia: en especial a mi mamá María Verónica Altamirano Delgado. Gracias a su apoyo incondicional pude concluir mi carrera.

A mi hijo Hazler Dasaev Medina Espinal por ser mi principal motivación al final de mi carrera.

Jossimar Medina

AGRADECIMIENTOS

A Dios nuestro Señor, por permitirnos llegar hasta la culminación de esta importante fase de nuestra formación como profesionales.

Agradecemos a todas las personas que contribuyeron con la realización de este estudio:

- Dr. Samuel Vílchez, nuestro tutor, gracias por su paciencia, orientación, su disponibilidad y conocimientos impartidos durante este proceso de aprendizaje.
- Al licenciado Roberto Herrera, por apoyarnos con el análisis de muestras en el laboratorio del Departamento de Microbiología y Parasitología de la UNAN-León.

A nuestros padres, por su incondicional apoyo moral y económico.

RESUMEN

En nuestro país la enfermedad renal es un grave problema de salud pública, existiendo grupos de pacientes con etiología conocida y otro grupo que se desconoce su origen. También sabemos, que *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) circula y está asociada a diarrea infantil. Además, las infecciones tempranas y recurrentes por EHEC sobretodo del serotipo O157, pueden aumentar la probabilidad de desarrollar daño renal. Así, se realizó un estudio caso control con el objetivo de Determinar la probabilidad de riesgo de ser seropositivo a *E. coli* enterohemorrágica O157, y la relación de los niveles de creatinina sérica y las tasas de filtración glomerular en personas sanas (n=80) y con diferentes grados de daño renal (n=42). Logrando determinar la seroprevalencia de anticuerpos de *E. coli* enterohemorrágica O157 en el 21.2% de las personas sanas y 23.8% en los individuos con diferentes grados de daño renal. Además, se encontró que los niveles de creatinina se encontraban alterados en el 7.5% de las personas sanas y en el 54.7% con diferentes grados de daño renal. Mientras que la tasa de filtración glomerular se encontraba alterada en el 7.5% de las personas sanas y el 52.3% los individuos con diferentes grados de daño renal. Paralelamente, al relacionar la seroprevalencia de anticuerpos de EHEC O157 con las tasas de filtración glomerular alterada se observaron diferencias significativas ($P=0.00188$) entre las personas sanas 16.7% (1/6) y los individuos con diferentes grados de daño renal 31.8% (7/22), con una probabilidad de ser seropositivo casi tres veces mayor en los individuos con función renal afectada (OR:2.742; IC95%:1.12-7.99).

Palabras clave: *E. Coli enterohemorrágica, Daño renal, seropositividad.*

Índice.

I. INTRODUCCIÓN.....	6
II. ANTECEDENTES.....	7
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	8
IV. JUSTIFICACIÓN.....	9
V. OBJETIVOS.....	10
Objetivo general.....	10
Objetivos específicos.....	10
VI. MARCO TEÓRICO.....	11
El síndrome urémico hemolítico.....	18
Etiología.....	19
Clínica.....	19
Fisiopatología.....	20
Tratamiento y evolución.....	22
VII. DISEÑO METODOLÓGICO.....	23
VIII. RESULTADOS.....	32
IX. DISCUSIÓN.....	37
X. CONCLUSIÓN.....	39
XI. RECOMENDACIONES.....	40
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
XIII. ANEXOS.....	46

I. INTRODUCCIÓN.

La Enfermedad Renal Crónica (ERC) es un problema de Salud Pública a nivel mundial, el número de pacientes se mantiene en incremento tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. Las personas con este diagnóstico tienen complicaciones lo que las lleva a etapas terminales de la enfermedad, por lo tanto estos individuos tienen que recurrir a procedimientos médicos más invasivos como diálisis o trasplantes renales, relacionado a esto se incrementa progresivamente el costo de atención por la prevalencia de la enfermedad que inclusive tiene un aumento de casos en personas adolescentes. ^(1,2)

En las dos últimas décadas en la subregión de Centroamérica se ha notificado un número creciente de casos de personas que sufren de enfermedad renal crónica y fallecen por esa causa. Entre esos casos se ha notificado un tipo de ERC cuya etiología no está relacionada con las causas más frecuentes de la ERC, como son la diabetes mellitus y la hipertensión arterial. Este tipo de ERC presenta una frecuencia mayor a la observada en la Región de las Américas y tiene una tendencia creciente. La enfermedad renal crónica de causas no tradicionales, que ha matado a miles principalmente en las comunidades agrícolas de Centroamérica, representa un problema grave de Salud Pública ⁽²⁾. Es demostrado que la enfermedad renal crónica son problemas crecientes en algunas regiones de Nicaragua, entre las ciudades más afectadas se encuentran Chinandega y León. ^(2,3)

El Síndrome urémico hemolítico (SUH) incluye la triada compuesta por anemia microangiopática, trombocitopenia y enfermedad renal aguda, siendo su principal etiología las infecciones contraídas por *Escherichia. coli* enterohemorrágica O157 (EHEC O157) si bien la capacidad toxigénica de esta bacteria es necesaria para que una persona pueda desarrollar diarrea infantil, sin embargo, la mayoría de las personas resuelven sin aparentes secuelas, pero un 10% de niños menores de 10 años pueden progresar a SUH. ⁽⁴⁾

II. ANTECEDENTES.

Rivas M et al., en Argentina para el año 1998 asociaron *Escherichia coli* productora de toxina Shiga con la etiopatogenia de Síndrome Urémico Hemolítico (SUH), en el cual ingresaron al Hospital Pediátrico Dr. HJ Notti, Mendoza 36 pacientes con diagnóstico de SUH. La edad promedio fue de 22.8 meses. El 94.4% de los pacientes presentó diarrea siendo sanguinolenta en el 83.3% de los casos. Veinticinco pacientes presentaron formas completas de SUH donde el 91.7% de los pacientes recuperó la función renal, dos pacientes evolucionaron a insuficiencia renal crónica y uno falleció. Evidencias acumulativas de infección por toxina Shiga se encontraron en 19 (86.4%) de 22 pacientes. Toxina Shiga del serotipo O157:H7, biotipo C fue detectado en 8 casos (36.4%).⁽¹⁾

Gadea M et al., en Uruguay 2004, realizaron un estudio en el Departamento de Bacteriología y Virología Clínica Pediátrica de la Ciudad de Montevideo, donde se aisló por primera vez *Escherichia coli* O157:H7, productora de toxina Shiga a partir del coprocultivo de una niña de 16 meses procedente de Melo, con diagnóstico de síndrome urémico hemolítico. La cepa, productora de toxinas Shiga tipo 1 y tipo 2 variante humana a, era totalmente diferente a las cepas presentes en Argentina. La paciente desarrollo Insuficiencia renal crónica.⁽²⁾

Rivero M et al., en Argentina 2004 por medio de un estudio en el laboratorio de Inmunología y biotecnología en la Universidad Nacional del Centro, Tandil encontró que el Síndrome Urémico Hemolítico constituye la principal causa de insuficiencia renal aguda y la segunda causa de insuficiencia renal crónica y de trasplante renal en niños con aproximadamente 420 casos nuevos declarados anualmente y una incidencia de 12.2/100 000 niños menores de 5 años de edad. Se considera a la infección por *E. coli* enterohemorrágica (*EHEC*) como la principal etiología de Síndrome Urémico Hemolítico donde se asocia con el serotipo O157:H7.⁽³⁾

Jimenez A, en Colombia 2014 de un estudio realizado en el Hospital de San José, Bogotá con un total de 110 casos para estudiar las bacterias *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido, el 62.7 % de los casos presentaron infección por *E. coli*, de estos se encontraron 20 casos con Insuficiencia renal crónica, todo esto con el fin de anticiparse al patrón de resistencia del microorganismo que infecta a un paciente con base en los factores de riesgo asociados permitiría la elección de un tratamiento antibiótico empírico apropiado, con el fin de lograr la disminución de la morbimortalidad de los pacientes.⁽⁴⁾

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Infecciones tempranas y recurrentes por *Escherichia coli* enterohemorrágica, pueden aumentar la probabilidad de desarrollar daño renal que puede conllevar al paciente a presentar un cuadro de Enfermedad renal Aguda (E.R.A.) y en el peor escenario Enfermedad Renal Crónica (E.R.C.). Esto puede deberse a las toxinas secretadas por *E. coli* enterohemorrágica durante las infecciones intestinales, puesto que son las que presentan tropismo renal y se sabe que durante el proceso infeccioso estas toxinas pueden trasladarse y viajar en el torrente sanguíneo hasta alcanzar el glomérulo renal. ^(1,2,3)

Puesto que las enfermedades renales representan una de las principales causas de consulta en nuestro país y no en todos los casos su origen es claro, es de vital importancia investigar la etiología de la misma, para así tener un manejo acertado del paciente y poder diseñar intervenciones que ayuden a prevenirla. Paralelamente, en nuestro país no se cuentan con estudios que relacionen la infección de *E. coli* enterohemorrágica con padecer daño renal, aunque se sabe que la *E. coli* hemorrágica está asociada a la diarrea infantil, es por ello que nos planteamos lo siguiente:

*¿Cuál es la probabilidad de tener anticuerpos de *E. coli* enterohemorrágica O157 en personas sanas y con diferentes grados de daño renal?*

IV. JUSTIFICACIÓN.

En nuestro país la enfermedad renal es un grave problema de salud pública, existiendo grupos de pacientes con etiología conocida y otro grupo que se desconoce su origen. También sabemos, que *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) circula y está asociada a diarrea infantil. Paralelamente, se sabe que EHEC puede provocar síndrome urémico hemolítico, triada que incluye anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia e insuficiencia renal. Luego, diversos estudios en Sudamérica reportan a EHEC como la principal causante de Insuficiencia renal en la edad pediátrica. Todo esto debido a que estas bacterias elaboran citotoxinas que tienen tropismo por las células renales, induciendo apoptosis de las mismas, lo que provoca una disminución de la función renal que en los peores escenarios desemboca en Insuficiencia Renal Crónica. ^(3,4)

Con el propósito de encontrar evidencia que relacione las infecciones intestinales a edad temprana por EHEC con la carga de enfermedad renal (sobre todo de origen desconocido), nos planteamos buscar evidencia serológica de infecciones por EHEC y su correlación con los problemas renales, investigando la seroprevalencia de anticuerpos contra el serotipo O157 de EHEC en una población de individuos sanos e individuos con diferentes grados de daño renal. Esto como primer punto de partida para comprender si las infecciones por esta bacteria contribuyen en alguna medida a la carga de la enfermedad renal en nuestro país. ^(3, 4,5)

V. OBJETIVOS.

Objetivo general.

Determinar la probabilidad de riesgo de ser seropositivo a E. coli enterohemorrágica O157, la relación de los niveles de creatinina sérica y las tasas de filtración glomerular en personas sanas y con diferentes grados de daño renal.

Objetivos específicos.

1. Describir las características sociodemográficas y epidemiológicas de la población de estudio.
2. Determinar la presencia de anticuerpos contra EHEC O157, valores de creatinina sérica y tasas de filtración glomerular en la población de estudio.
3. Correlacionar la seroprevalencia de anticuerpos con el grado de daño renal en la población de estudio.

VI. MARCO TEÓRICO.

Escherichia coli es un importante miembro de la microbiota intestinal de humanos y animales. ⁽⁶⁾

Algunas cepas poseen un conjunto de factores de virulencia que, de estar presentes, pueden afectar un amplio rango de procesos celulares dando origen a enfermedades intestinales y extraintestinales. Se reconocen seis grupos de *E. coli* productores de diarrea: *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* shigatoxigénica (STEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enteroagregativa (EAaggEC) y *E. coli* de adherencia difusa (DAEC). ^(1,2) STEC es el patógeno emergente en alimentos de mayor impacto y su principal reservorio es el ganado bovino. La vía de transmisión más importante es la ingesta de alimentos contaminados, principalmente elaborados a base de carne picada. Otras formas de transmisión incluyen agua contaminada por heces bovinas, verduras regadas con aguas contaminadas, contacto directo del hombre con los animales y transmisión persona a persona por la ruta fecal-oral. ^(7,8)

Escherichia coli shigatoxigénica (STEC) es un patógeno endémico en Latinoamérica con alto impacto en el sistema de salud. Los principales genes de virulencia de STEC son los que codifican para las toxinas Shiga (stx1, stx2 y sus variantes), responsables del daño del endotelio vascular sistémico, de adhesinas tales como la intimina (eaeA) y una enterohemolisina (ehxA) codificada en un megaplásmido. Las potentes citotoxinas Stx están codificadas por bacteriófagos insertados en el cromosoma bacteriano; Stx2 tiene una actividad citotóxica cien veces superior a Stx1. ^(7, 8,9)

Estos “patotipos” se distinguen de los simbioses de la microbiota porque los factores de virulencia son adquiridos principalmente por transferencia horizontal de genes a partir de otras bacterias. Debido a este mismo fenómeno, además de las cepas patógenas intestinales, se identifican *E. coli* extraintestinales causantes de distintos tipos de patologías. ⁽⁹⁾

STEC presenta genes que codifican para las toxinas Shiga, junto con marcadores de virulencia adicionales que definen el potencial de riesgo de cada cepa este patógeno. *E. coli* O157:H7 es el serotipo prevalente asociado a grandes brotes y casos esporádicos de colitis hemorrágica (CH) y SUH. ^(10, 11,12)

Las cepas comprendidas dentro del virotipo EHEC, así denominadas debido a la capacidad que tienen de producir colitis hemorrágica (CH), se caracterizan por compartir caracteres clínicos, patogénicos y epidemiológicos con la cepa O157:H7 y son un subgrupo de *E. coli* verocitoxigénico (VTEC) o *E. coli* productor de toxina Shiga (STEC) ^(13,14)

***Escherichia. coli* verocitoxigénico (VTEC) presenta las siguientes características que determinan su virulencia:**

a) Producción de verocitotoxinas (VTs): verocitotoxina 1 (VT1) y verocitotoxina 2 (VT2), así denominadas por su efecto citopatogénico sobre células Vero. Se denominan también Shiga-like toxins (SLTs) por su relación biológica y estructural con la toxina Shiga sintetizada por *Shigella dysenteriae* tipo I o, según una nueva nomenclatura, Shiga toxins (Stx). Estas toxinas son proteínas multiméricas compuestas por dos polipéptidos, un pentámero de adhesión formado por cinco subunidades B y una subunidad A (fracción enzimáticamente activa). Una vez fijada a su receptor a través de la subunidad B, las VTs son internalizadas dentro de las células blanco (endoteliales, epiteliales y hematíes que presentan en su membrana el grupo glicolipídico P1) por un mecanismo de endocitosis. La subunidad A es clivada liberando un fragmento A1 cuya actividad catalítica resulta en un bloqueo irreversible de la síntesis proteica. La secuencia de la toxina VT1 está altamente conservada, mientras que existe variación en las secuencias de VT2, resultando en numerosas variantes. ^(15,16)

(Stx2) tiene sólo 56% de identidad con Stx1. Además, algunas variantes de Stx2 son más virulentas en el hombre, tal es el caso de Stx2c y ciertas formas de Stx2d, que pueden ser activadas por la elastasa presente en el mucus humano. Si bien las infecciones por STEC están asociadas a Stx1, Stx2 o a ambas, la producción de Stx2 aumenta el riesgo de SUH. ⁽¹⁶⁾

b) Presencia de grandes plásmidos enterohemorrágicos (megaplásmido o Mp) que se encuentran presentes en casi la totalidad de las cepas productoras de CH y SUH en humanos y codifican para una fimbria de adherencia, una hemolisina EHEC (Hly EHEC) 25 y una adhesina autoaglutinante de VTEC (Saa). Los genes saa de distintas cepas VTEC presentan una gran variación en su tamaño. ^(17,18)

c) Posee un mecanismo especial de adherencia al enterocito, denominado “attaching and effacing” o adherencia y borrado que se caracteriza por una íntima adherencia de la bacteria a la célula intestinal. El fenómeno está codificado por un conjunto de genes típicos de EPEC y VTEC, contenidos en una región cromosomal denominada LEE o locus de borrado del enterocito. Dentro de esta región se encuentra el gen eaeA, cuyo producto es una proteína de membrana externa denominada intimina. En cepas negativas para LEE se ha encontrado el gen saa en el Mp, pudiendo ser éste uno de los mecanismos que intervienen en la adherencia de estas cepas carentes de intimina. ⁽¹⁹⁾

Recientemente se informó que algunas cepas de STEC producen una nueva toxina, denominada citotoxina subtilasa porque está relacionada estructuralmente y funcionalmente con la serina proteasa de la familia de la subtilasa, presente en *Bacillus anthracis*. Los estudios con esta toxina denominada Sub AB demuestran que es capaz de producir mayor citotoxicidad que Stx2 en células Vero. ^(20,21)

Ambas toxinas Stx y Sub AB pertenecen a la familia AB, que consiste en una subunidad A unida a un pentámero de subunidades B. Este pentámero se une al receptor globotriaosilcermida Gb3 en el caso de Stx2 y al receptor GM2, en el caso de SubAB, los cuales están presentes en la superficie de las células blanco. Mientras que Stx se internaliza a los endosomas tempranos y sigue un transporte retrógrado por la vía del complejo de Golgi, retículo endoplásmico (RE) y la membrana nuclear, la SubAB se mueve directamente desde los endosomas tempranos al compartimiento citoplasmático. ⁽²²⁾

La subunidad A de Stx2 y de SubAB inhibe la síntesis de proteínas, aunque de maneras diferentes. La subunidad A de Stx se fragmenta en el aparato de Golgi en dos fragmentos: A1 y A2. El fragmento A1 activo se trasloca al citoplasma donde actúa como una N-glicosidasa que remueve un residuo específico de adenina de la unidad ribosomal, lo que resulta en una inhibición irreversible de la síntesis de proteínas e inducción de apoptosis. ⁽²²⁾

En cambio, la subunidad A de SubAB requiere la subunidad B para inactivar una proteína reguladora de RE denominada chaperona BIP. BIP es un regulador vital para las funciones del RE y su fragmentación conduce, inevitablemente, a la muerte celular. ⁽²²⁾

En ausencia de la subunidad A, se han descrito otros efectos biológicos relacionados con las subunidades B de Stx2 (Stx2B) y también de SubAB. La unión de Stx2B al receptor Gb3 dispara señales intracelulares que inducen apoptosis en células epiteliales y no epiteliales, mientras que las subunidades B de Sub AB causan vacuolización en células Vero dependiente de la ATPasa tipo V. Recientemente, se demostró que Stx2B inhibe la absorción de agua en colon humano in vitro y produce acumulación de fluido acuoso en fragmentos de coligado de rata, lo cual indicaría una contribución directa de Stx2B a la diarrea acuosa observada en los primeros días de la infección por STEC. ^(22,23)

Los mismos efectos fueron observados en células epiteliales tubulares renales humanas y podrían estar relacionados con la alteración en la función de los transportadores Na⁺ /H⁺ (NHE3) y canales de agua (AQP1) presentes en la membrana apical de las células del túbulo proximal renal. ⁽²⁴⁾

Recientemente se demostró que la unión de Stx2B favorece la formación de invaginaciones tubulares de membrana para la traslocación de la toxina. ⁽²⁴⁾

Este fenómeno podría deslocalizar los transportadores y canales de membrana responsables de la reabsorción proximal de fluido y explicar la poliuria que se describe en algunos pacientes con SUH al comienzo de la insuficiencia renal aguda. ^(24,25)

Toxina shiga en intestino.

Si bien la mayoría de datos obtenidos del Stx y su citotoxicidad se basan en estudios realizados en células Gb3-positivas, el hallazgo del transporte retrógrado de Stx en la línea celular T84, que carece de receptores Gb3, es de particular interés, ya que son células empleadas como modelo de epitelio intestinal humano y, además, son resistentes a la acción de la toxina. En estas células se detectó Stx1 en endosomas, complejo de Golgi, retículo endoplásmico y membrana nuclear, aunque la fragmentación de la subunidad A ocurre luego de 6 h de incubación mientras que la citotoxicidad no se observa aún en períodos de 24 h. ⁽²⁵⁾

En cambio, en otra línea intestinal humana, Caco2, que expresa receptores Gb3, se demuestra que Stx1 y Stx2 se transportan al RE, la subunidad A de ambas se activa mediante un fragmento dependiente de furina y producen ribotoxicidad con la consecuente inhibición de la síntesis de proteínas e inducción de la apoptosis celular. Asimismo, nosotros se ha demostrado que Stx2 ejerce efecto citotóxico tanto en células Caco-2 como en T84, aunque el efecto fue significativamente mayor en Caco-2. ^(25,26)

Por otra parte, en ambas líneas celulares, también se describe un movimiento de la toxina a través de la barrera intestinal sin aparente daño celular, probablemente vía un camino transcelular activo. El conjunto de estos resultados hace indicar que la citotoxicidad va asociada a la presencia del receptor Gb3, aunque se discute su expresión en membrana apical de las células epiteliales de la mucosa colónica. Algunas investigaciones demuestran la existencia del receptor Gb3 y otras su ausencia, pero en todas ellas se describen alteraciones estructurales y funcionales del epitelio por acción de la toxina. ⁽²⁶⁾

De esta forma cabe destacar que una inhibición significativa del transporte de agua a través de la mucosa colónica humana in vitro y una destrucción importante de la superficie intestinal luego de incubar el lado mucoso del tejido con Stx2 pura o sobrenadantes de STEC aislados de niños con SUH en Argentina. En ambos casos se observó una infiltración de neutrófilos que fue más importante en los tejidos incubados con sobrenadantes bacterianos que contenían

lipopolisacáridos. Teniendo en cuenta que en infecciones por STEC frecuentemente se encuentran leucocitos en materia fecal, y que la migración de neutrófilos hacia la luz intestinal puede promover el pasaje de la toxina a través de la barrera intestinal, es posible que la inflamación que observamos potencie la acción citotóxica de Stx. ⁽²⁷⁾

Toxina Shiga en riñón

El riñón expresa niveles relativamente altos de Gb3 comparados con otros órganos, razón por la cual resulta uno de los órganos blanco fundamentales en el desarrollo del SUH. Una apreciación sobre la alta sensibilidad a Stx de las células endoteliales de la microvasculatura sanguínea que expresa Gb3 resultó en la hipótesis de que la toxina inicia directamente las lesiones clásicas del SUH en el riñón: tumefacción de las células endoteliales glomerulares, desprendimiento de la membrana basal y subsecuente depósito de trombos plaquetarios y fibrina en la microvasculatura renal, aunque estudios recientes sugieren que el daño tubular secundario a la lesión glomerular y arteriolar inducida por la toxina, sino también a su acción directa sobre las células epiteliales tubulares renales. ⁽²⁸⁾

Un importante daño tubular proximal renal se describe en los tejidos renales afectados por la insuficiencia renal aguda que desarrolla la enfermedad, donde el aumento en orina de N-acetilglucosaminidasa y β -microglobulina, señalados como marcadores específicos de la función tubular, aporta evidencias de daño tubular renal en la fase aguda. Ya que con estudios la acción de Stx en células epiteliales tubulares renales en cultivo, la presencia de Gb3, la unión de Stx, su internalización y la producción de citoquinas. ^(28,29)

En estudios de tejidos obtenidos de pacientes con SUH y en modelos in vitro se demostró la estimulación de la apoptosis en células de la corteza renal humana que demuestra que la toxina puede iniciar la muerte celular programada por diferentes mecanismos. En modelos experimentales de SUH se observa que el segmento más afectado es el túbulo proximal, lo cual sugiere que la lesión endotelial glomerular puede ser secundaria a la necrosis tubular. ^(29,30)

Toxina Shiga en cerebro

Existe una mortalidad de alrededor del 2,4% de los casos de SUH asociado a infecciones por STEC y la mayor parte de estos casos se debe a la lesión del sistema nervioso central (SNC) por la acción de Stxs. En estudios de cerebros provenientes de autopsias de niños fallecidos por SUH se observaron trombos en la microvasculatura, edema endotelial e infartos, que sugerían que el episodio inicial de la encefalopatía asociado al SUH era la lesión endotelial.
(29)

En modelos animales también se observó que el daño neurológico estaba asociado a la destrucción de la microvasculatura y de células neurogliales de la corteza cerebral. También se observó un daño selectivo de neuronas en las capas profundas de la corteza cerebelosa y cerebral, cerebro medio y médula espinal; y la toxina se detectó en la pared de los vasos sanguíneos de las zonas involucradas. Los estudios de imagen por resonancia magnética (RM) detectaron lesiones cerebrales en el hipotálamo, hipocampo, tallo cerebral, médula y cerebelo de conejos inyectados con Stx2; la técnica de RM es confiable mostrar daño cerebral, pero es ineficiente para señalar las áreas afectadas a nivel celular. (30,31)

En estas condiciones se logró demostrar la muerte neuronal y el daño astrocitario, así como el aumento en la expresión de la proteína fibrilar glial ácida (GFAP, por su sigla en inglés) que condujo a la astrogliosis. (31,32)

La administración ICV de Stx2 mostró alteraciones ultraestructurales en fibras y en cuerpos neuronales del cuerpo estriado. Estos cambios incluyeron degeneración neuronal y fibras axónicas hipertróficas que se correlacionaron con la localización de la toxina en los axones lesionados y con alteraciones en el retículo endoplásmico. Stx2 se localizó en núcleos de astrocitos, donde puede cumplir un rol importante en la inhibición del ensamblado del ARN ribosomal. Además, Stx2 causó daño citoplasmático y gliosis, así como oligodendrocitos desmielinizados en el cuerpo estriado. Los estudios de microscopía con focal mostraron reactivos y un aumento de GFAP en astrocitos hipertrofiados, que contactaron con neuronas

que no tenían Stx2. La lesión observada en el cerebro coincidió con cambios en la expresión y actividad del óxido nítrico sintetasa neuronal (NOSn, por su sigla en inglés).⁽³³⁾

En la corteza cerebral y en el cuerpo estriado se observó una disminución significativa en el número de neuronas NOS positivas y en la actividad de la NOSn, mientras que en el núcleo paraventricular del hipotálamo se encontró un efecto opuesto. De acuerdo al estado funcional de la NOSn y a los datos celulares morfológicos y ultraestructurales se puede inferir que la presencia de la toxina disparó mecanismos neurodegenerativos o neuroprotectores en las áreas cerebrales afectadas.⁽³³⁾

El conjunto de estos resultados coincide con los hallados en las encefalopatías desarrolladas en pacientes con SUH y sugiere que la toxina produce un daño directo en las células del parénquima del SNC.⁽³⁴⁾

El síndrome urémico hemolítico.

El SUH fue descrito por primera vez por V. Gasser en Suiza, en 1955, Posteriormente, se detectaron casos en países de Europa, América del Norte, Sudamérica, Sudáfrica, Australia, India y Japón.⁽³⁵⁾

El síndrome urémico hemolítico (SUH) es un desorden multisistémico caracterizado por presentar una triada característica compuesta por insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica microangiopática y trombocitopenia grave, con microangiopatía de selectiva localización renal y manifestaciones de lesión isquémica en otros órganos como sistema nervioso central, retina, miocardio, páncreas e intestino. Esto da lugar a un cuadro clínico englobado en la denominación genérica de microangiopatía trombótica.^(35,36)

Es una enfermedad que puede seguir o no a un episodio de diarrea con sangre o sin ella, principalmente en lactantes y niños en la primera infancia, pero puede afectar también a ancianos.⁽³⁶⁾

Etiología.

Entre las múltiples causas pueden mencionarse: infecciosas (*Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Streptococcus pneumoniae*, *Yersinia*, *Campylobacter*, *Aeromonas*, *Clostridium difficile*, *virus de Epstein Barr*), idiopáticas, familiares, desórdenes autoinmunes (lupus eritematoso sistémico, embarazo y período postparto, tumores malignos, fármacos (ciclosporina, mitomicina, cisplatino, anticonceptivos orales), hipertensión maligna. Se considera a la infección por *E. coli* enterohemorrágica como la principal etiología de SUH. (37)

La gran mayoría de brotes epidémicos y casos esporádicos en humanos se han asociado con el serotipo O157:H7, aunque otros serotipos han sido también aislados, y éstos son un subgrupo de *E. coli* verocitotoxigénico (VTEC). (37)

Clínica.

El inicio de la clínica suele ser abrupto, aunque en un 20% de los pacientes puede ser progresivo (semanas o meses) con anemia subclínica, trombocitopenia fluctuante y función renal conservada. El cuadro se caracteriza por la tríada de anemia hemolítica microangiopática no inmune, trombocitopenia y fracaso renal agudo. Los niveles altos de lactatodeshidrogenasa (LDH), los niveles indetectables de haptoglobina y la observación de esquistocitos confirman la presencia de hemólisis intravascular asociada a hematuria, proteinuria y/o fracaso renal agudo (con o sin oligoanuria). (37,38)

La incidencia de hipertensión arterial, por sobrecarga de volumen o por lesión vascular, es frecuente. En algunos pacientes la única manifestación de SUH puede ser proteinuria con hipertensión arterial y desarrollo de insuficiencia renal progresiva sin alteraciones hematológicas. (38,39)

Aunque las lesiones en el SHU afectan predominantemente a los vasos renales, el carácter difuso y sistémico del fenómeno de MAT conduce a la afectación de la microvasculatura de otros órganos (cerebro, corazón, intestino, páncreas y pulmones, entre otros), lo que explica la aparición frecuente de síntomas extrarrenales. Los más frecuentes son los de tipo neurológico (48%), incluyendo irritabilidad, somnolencia, confusión, convulsiones, encefalopatía, accidente cerebrovascular, hemiparesias, alteraciones visuales, hemiplejías o coma. ⁽³⁹⁾

El infarto de miocardio se ha descrito hasta en un 3% de los pacientes con SHU, pudiéndose relacionar con muerte súbita. La miocardiopatía, la insuficiencia cardíaca y la vasculopatía isquémica periférica también han sido descritas, así como la diarrea (30%) y otros síntomas gastrointestinales (colitis, náuseas, vómitos, dolor abdominal, hepatitis, colestasis y pancreatitis, entre otros). Recientemente se han reportado casos de pacientes con SHU con afectación cutánea en forma de lesiones ulcerosas en las extremidades inferiores. La variabilidad de la sintomatología dificulta el diagnóstico diferencial con otras causas de SHU. ⁽⁴⁰⁾

Fisiopatología.

El sistema del complemento, formado por numerosas proteínas plasmáticas circulantes y asociadas a las membranas celulares, forma parte de la inmunidad innata y es esencial en la defensa contra las infecciones, el procesamiento de complejos inmunes, la respuesta de anticuerpos y la eliminación de restos apoptóticos. Su activación por cualquiera de las vías existentes (clásica, lectina y alternativa) conlleva la formación de complejos multiproteicos con actividad C3-convertasa que escinden la proteína C3, generando C3b. ^(41,42)

Esta molécula puede unirse covalentemente a las superficies responsables de la activación del complemento, facilitando su fagocitosis por leucocitos polimorfonucleares y macrófagos e iniciando la activación de C5 que lleva al ensamblaje del complejo de ataque a la membrana que conduce a la lisis celular. ⁽⁴³⁾

Además, como el C3b es uno de los componentes de la C3-convertasa de la vía alternativa, su generación amplifica exponencialmente la activación del complemento promoviendo la formación de más C3-convertasas. Para evitar que la activación del complemento lo consuma totalmente e impedir dañar los tejidos propios (el C3b se une indiscriminadamente tanto a patógenos como a células propias), existen numerosas proteínas reguladoras del proceso, como el FH, la proteína cofactor de membrana (MCP) y el factor del complemento (FI), que disocian las C3-convertasas e inducen la degradación de C3b. En consecuencia, en condiciones normales los niveles de C3b se mantienen bajos y cuando se activa el complemento su depósito se limita a las estructuras responsables de esa activación. ⁽⁴⁴⁾

Numerosos estudios han establecido que aproximadamente un 60% de los pacientes con SHU son portadores de mutaciones en los genes reguladores del complemento (CFH, MCP, CFI, trombomodulina [THBD], o en los componentes de la C3-convertasa, factor B [FB] y C3). ⁽⁴³⁾

El FH actúa en plasma controlando la homeostasis del complemento y sobre superficies celulares evitando el daño a componentes propios. Las mutaciones en la región C-terminal de FH son características de SHU; estas mutaciones, al alterar una región de FH que es necesaria para regular la activación del complemento sobre las superficies celulares, disminuyen la protección de las células al daño accidental producido por la activación del complemento, pero no afectan la regulación del complemento en plasma. ⁽⁴³⁾

Tratamiento y evolución. ^(42,43)

El paciente con diagnóstico de SUH debe ser siempre internado.

El tratamiento consiste en:

1. Corrección de trastornos hidroelectrolíticos y del estado ácido-base.
2. Transfusión en caso de anemia y/o trombocitopenia grave (75% de los casos).
3. Inicio precoz de la alimentación por vía oral.
4. Manejo de la hipertensión corrigiendo la sobrecarga hídrica y en algunos casos mediante la utilización de agentes antihipertensivos como enalapril, propranolol, nifedipina, etc.
5. No se deben utilizar agentes que inhiban la motilidad intestinal ya que prolongan la duración de la diarrea y aumentan el riesgo de padecer SUH.
6. Los antibióticos en general no son útiles para el tratamiento y aumentan la gravedad del
7. Ante la sospecha de SUH se debe evitar la sobrehidratación hasta haber realizado el diagnóstico de certeza.

En cuanto a la evolución de la enfermedad: el 50-75% de los pacientes deben ser sometidos a diálisis peritoneal intermitente o hemodiálisis, recuperándose sin secuelas luego de 2 a 3 semanas. La tasa de letalidad es alrededor del 3%; el 20-30% sufren formas persistentes de nefropatías o formas secuelas de insuficiencia renal y el 10 a 15% requieren trasplante renal. El compromiso cardíaco es raro, pero puede conducir a la insuficiencia cardíaca debido a cardiomiopatía o miocarditis. ^(41,42,43)

VII. DISEÑO METODOLÓGICO.

- **Tipo de Estudio.**

El estudio presentado es de tipo Analítico: Caso Control.

- **Área de Estudio.**

Las unidades de salud donde se efectuó el presente estudio fueron: Centro de Salud Mantica Berio y Centro de Salud Antenor Sandino Hernández.

- **Período de Estudio.**

El período de realización del estudio comprendió de Marzo a Agosto del año 2020.

- **Universo.**

Estuvo conformado por todos los pacientes que acudieron a los centros de salud Mantica Berio y Antenor Sandino Hernández con algún grado de afección renal y aparentemente sanas.

- **Muestra y muestreo.**

La muestra está conformada por 122 pacientes, seleccionados al azar y que cumplían los criterios de inclusión aquí descritos. Se incluyeron 42 pacientes con enfermedad renal crónica o enfermedad renal aguda, y 80 pacientes aparentemente sanos.

- **Criterios de inclusión**

Pacientes mayores de 18 años hombres y mujeres

Personas aparentemente sanas (controles) o que tengan alguna enfermedad renal actual (Casos), ya sea aguda o crónica y con diagnóstico confirmado por parte del Ministerio de Salud Local e incluidos en el censo de pacientes crónicos.

Pacientes que acudan a los centros de salud Mantica Berio y Antenor Sandino Hernández.

- **Criterios de exclusión**

Pacientes menores de 18 años.

Pacientes con otros desordenes inmunológicos.

- **Fuentes y obtención de la Información.**

La fuente de información que se utilizó en la realización de este estudio es primaria, puesto que se realizó entrevista directa a los pacientes que formaron parte del estudio y se efectuaron exámenes de laboratorio para determinar creatinina sérica, titulación de anticuerpos y Tasa de filtración glomerular (TFG).

- **Técnicas y Procedimientos.**

Toma de muestra

Se realizó el procedimiento de la recolección de una muestra de sangre mediante la venopunción de una vena localizada en alguno de los dos miembros superiores de los pacientes; se limpió con alcohol etílico al 70%, luego se colocó una banda elástica alrededor de la parte superior del sitio donde se procedió a tomar la muestra con el fin de aplicar presión en la zona, se introdujo una aguja hasta llegar a la vena, se recogió la sangre en un frasco hermético o tubo adherido a la aguja, después retiramos la banda elástica, se sacó la aguja y el sitio se cubrió con algodón, donde aplicamos un poco de presión por 5 minutos para detener el sangrado. Luego, separamos por centrifugación el suero de la sangre total.

ELISA *in house* para la determinación de anticuerpos contra antígeno O157 de *Escherichia coli* enterohemorrágica

I. Preparación del antígeno:

El antígeno O157 de ECEH estaba acoplado a partículas de latex, el cual se reconstituyó utilizando 100 µL del carbonato buffer. Posteriormente fue diluido 1/16 en carbonato buffer como solución de trabajo para la sensibilización de la placa de ELISA.

II. Preparación del conjugado:

El conjugado utilizado fue un Anti-human IgG. La solución de trabajo se utilizó a una dilución 1/5000 con TBS 1X con 0.05 % de tween más 3 % de leche.

III. Preparación de las muestras:

Los sueros congelados a – 20 °C, fueron colocados a 4 ° C por 12 horas antes de iniciar el procedimiento, y se utilizaron 50 µL del suero para el análisis.

IV. Procedimiento:

Pasos:

1. Utilizando la solución de trabajo del antígeno, se sensibilizaron los posos de la placa con 50 µL.
2. Se incubo la placa dentro de una cámara húmeda a 37 °C por 2 horas.
3. Se descartó el líquido contenido en los pozos y se lavó 2 veces con 200 µL de TBS 1X con 0.05 % de tween. Se secó con papel toalla por cada lavado.

4. Se realizó bloqueo de los pozos utilizando 100 µL de TBS 1X con 0.05 % de tween más 3 % de leche.
5. Se incubó la placa dentro de una cámara húmeda a 37 °C por 1 hora.
6. Se descartó el líquido contenido en los pozos y lavar 2 veces con 200 µL de TBS 1 X con 0.05 % de tween. Se secó con papel toalla por cada lavado.
7. Se agregaron 50 µL del suero o muestra en cada pozo correspondiente.
8. Se incubó la placa dentro de una cámara húmeda a 37 °C por 1 hora.
9. Se descarta el líquido contenido en los pozos y lavar 3 veces con 200 µL de TBS 1 X con 0.05 % de tween. Se seca con papel toalla por cada lavado.
10. Se agrega 50 µL del conjugado Anti-human IgG.
11. Se incuba la placa dentro de una cámara húmeda a 37 °C por 1 hora.
12. Se descarta el líquido contenido en los pozos y lavar 3 veces con 200 µL de TBS 1 X con 0.05 % de tween. Se seca con papel toalla por cada lavado.
13. Se agregaron 50 µL de TMB a cada pozo correspondiente y se deja desarrollar por 5 minutos.
14. Se agregaron 50 µL de ácido sulfúrico (H₂SO₄).
15. Se realiza la lectura a 450 nm.
16. Interpretación de los resultados se realizaron en base a un **Cut-off de 0.40**.

Creatinina en Suero.

La determinación de creatinina en suero se realizó de acuerdo al procedimiento del fabricante Interbiotech No. BP999 “Direct Creatinine LiquiColor® (Ver Anexo 1).

Tasa de Filtración glomerular

La fórmula CKD-EPI la cual toma como datos relevantes el valor de creatinina, el sexo, la raza y la edad los pacientes fue útil en este estudio para determinar la Tasa de filtración glomerular (TFG). Fórmulas:

Etnia negra

▪ Mujeres

- Si creatinina <_62: FG estimado = $166 \times ([\text{creatinina}/88,4/0,7]^{-0,329}) \times 0,993^{\text{edad}}$

- Si creatinina >62: FG estimado = $166 \times ([\text{creatinina}/88,4/0,7]^{-1,209}) \times 0,993^{\text{edad}}$

▪ Hombres

- Si creatinina <_80: FG estimado = $163 \times ([\text{creatinina}/88,4/0,9]^{-0,411}) \times 0,993^{\text{edad}}$

- Si creatinina >80: FG estimado = $163 \times ([\text{creatinina}/88,4/0,7]^{-1,209}) \times 0,993^{\text{edad}}$

Etnia blanca y otras

▪ Mujeres

- Si creatinina <_62: FG estimado = $144 \times ([\text{creatinina}/88,4/0,7]^{-0,329}) \times 0,993^{\text{edad}}$

- Si creatinina >62: FG estimado = $144 \times ([\text{creatinina}/88,4/0,7]^{-1,209}) \times 0,993^{\text{edad}}$

▪ Hombres

- Si creatinina <_80: FG estimado = $141 \times ([\text{creatinina}/88,4/0,9]^{-0,411}) \times 0,993^{\text{edad}}$

- Si creatinina >80: FG estimado = $141 \times ([\text{creatinina}/88,4/0,7]^{-1,209}) \times 0,993^{\text{edad}}$

• Instrumentos de recolección de datos.

(Ver Anexo 2).

- **Plan de Análisis.**

La información obtenida fue recopilada, ordenada, clasificada, agrupada y analizada de acuerdo con los objetivos propuestos en el presente estudio, realizando un análisis descriptivo de todas las variables por medio de tablas de frecuencia, porcentajes y gráficos, posteriormente se hizo un análisis estadístico la prueba Mann-Whitney U para examinar si existía una diferencia significativa en las medias geométricas de las concentraciones de anticuerpos entre los grupos de análisis. La prueba de Fisher y medidas de asociación, se utilizaron para examinar y encontrar una diferencia significativa en las tasas de anticuerpos positivos, todo esto a través del programa SPSS, versión 20.

- **Aspectos Éticos**

En esta investigación se consideran las normas éticas en relación con investigación en seres humanos y como primer paso el presente protocolo de estudio fue sometido a consideración por el Comité de Ética para investigaciones biomédicas de la Facultad de Ciencias Médicas. Una vez obtenida la aprobación por parte del comité de ética, a los pacientes escogidos se les informó acerca del objetivo de este estudio, a través de un consentimiento informado donde se les explicó el fin de la investigación, así como sus procedimientos, duración, riesgo, beneficios y derecho a negarse a participar.

Operacionalización de variables.

Variables	Definición	Indicador	Valor
Edad	Tiempo que ha vivido una persona u otro ser vivo contando desde su nacimiento	Cédula de identidad	Años cumplidos
Sexo	Conjunto de características físicas, biológicas, fisiológicas y anatómicas que definen a los seres humanos como hombre y mujer	Encuesta	1) Mujer 2) Hombre
Etnia	Comunidad natural de seres humanos que presentan ciertas afinidades raciales.	Encuesta	1) Blanca 2) Mestiza 3) Indígena 4) Negra 5) Otros
Estado civil	Condición de un individuo en lo referente a su relación de pareja	Encuesta	1) Soltero 2) Casado 3) Acompañado 4) Otro
Escolaridad	Nivel académico más alto alcanzado hasta el momento de llenar la encuesta	Encuesta	1) Ninguna 2) Alfabetizada 3) Primaria 4) Secundaria 5) Técnico 6) Universidad
Ocupación	Actividad a la que un individuo se dedica	Encuesta	1) Trabajador 2) Ama de Casa 3) Jubilado 4) Otros

“Seroprevalencia de anticuerpos contra *E. coli* enterohemorrágica O157 en personas sanas y con diferente grado de daño renal.”

Hipertensión Arterial (HTA)	Enfermedad que se caracteriza por el aumento de los valores normales de presión arterial	Encuesta	1) Si 2) No
Diabetes	Enfermedad crónica que se asocia a daño en diferentes órganos, debido al aumento de los niveles de glucosa.	Encuesta	1) Si 2) No
Enfermedad Renal Aguda	Disminución de la capacidad que tienen los riñones para eliminar productos nitrogenados de desecho, instaurados en horas a días.	Encuesta	1) Si 2) No
Enfermedad Renal Crónica	Alteración estructural o funcional renal, disminución de la capacidad de filtración de los riñones de forma crónica e irreversible.	Encuesta	1) Si 2) No
Artritis	Inflamación de una o varias articulaciones del cuerpo de manera crónica.	Encuesta	1) Si 2) No
Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC)	Proceso patológico caracterizado por una limitación del flujo respiratorio que no es completamente reversible.	Encuesta	1) Si 2) No
Cardiopatía	Enfermedad que se caracteriza por ser progresiva y que afecta al miocardio		1) Si 2) No
Test de ELISA	Examen de laboratorio en el que anticuerpos específicos se intercala con antígenos para la titulación de anticuerpos	Titulación de anticuerpos	1) Reactor 2) No Reactor

“Seroprevalencia de anticuerpos contra *E. coli* enterohemorrágica O157 en personas sanas y con diferente grado de daño renal.”

Creatinina	Producto de desecho del metabolismo de los músculos a partir de la degradación de la Creatina que el cuerpo produce en una tasa muy constante; normalmente filtran los riñones excretándola en la orina.	Muestra de sangre	Rangos Normales. Femenino; Edad en años mg/dl 18-29: ≤1 30-54: ≤0.9 55-65: ≤0.8 >65: ≤0.8 Masculino; 18-24: ≤1.3 25-39: ≤1.2 40-65: ≤1.1 >65: ≤1.
Tasa de Filtración glomerular	Volumen de fluido filtrado por unidad de tiempo desde los capilares glomerulares normales	Fórmula CKD-EPI	Rangos Normales ≥90 mL/min 60-89 mL/min

VIII. RESULTADOS.

En el presente estudio se incluyeron 122 sujetos con diferentes grados de afectación renal, resaltando las siguientes características sociodemográficas y epidemiológicas: 1) no hubo diferencias respecto al sexo femenino predominante 76.1% y 72.5%, casos y controles respectivamente. Luego, aunque sin significancia estadística, la media de edad fue 62.05 años para los casos y 44.71 para los controles. Mientras que con respecto a la proporción de sujetos con Hipertensión Arterial fue 71.4% en los casos y 26.2% en los controles, siendo esta diferencia significativa ($P < 0.0001$) con un OR crudo de 6.89 (IC95%: 2.83-17.51) (Ver tabla 1).

Tabla 1. Distribución de las características sociodemográficas y epidemiológicas en la población de estudio.

<i>Características n (%)</i>	Casos (n= 42)	Controles (n=80)	OR (IC 95%)	P
<i>Promedio Edad años</i>	62.05	44.71	-	-
<i>Sexo Femenino</i>	32 (76.1)	58 (72.5)	1.(0.47-3.23)	0.83
<i>Escolaridad</i>	4 (9.5)	1 (1.2)	-	-
<i>Analfabeta</i>	1 (2.3)	3 (3.7)	-	-
<i>Primaria</i>	22 (52.3)	22 (27.5)	-	-
<i>Secundaria</i>	8 (19.0)	21 (26.2)	-	-
<i>Técnica</i>	2 (4.7)	5 (6.2)	-	-
<i>Universitaria</i>	5 (11.9)	28 (35)	-	-
<i>Ocupación</i>	3 (7.1)	48 (60)	0.05(0.009-0.186)	<0.0001
<i>Diagnóstico de HTA</i>	30(71.4)	21(26.2)	6.89(2.83-17.51)	<0.0001
<i>Diagnóstico de Diabetes</i>	18(42.8)	6(7.5)	9.04 (3.29-25)	<0.0001
<i>Diagnóstico de Enfermedad Renal Aguda</i>	4(9.5)	1(1.2)	8.31(0.77-44.6)	0.09
<i>Diagnóstico de Enfermedad Renal Crónica</i>	38 (90.4)	0	-	-
<i>Diagnóstico de Artritis</i>	7 (16.6)	5 (6.2)	2.97(0.75-12.76)	0.13
<i>Diagnóstico de EPOC</i>	0	0	-	-
<i>Diagnóstico de Cardiopatías</i>	9 (21.4)	5 (6.0)	4.0 (1.11-16.58)	0.03
<i>Diagnóstico de Osteoporosis</i>	3 (7.1)	2 (2.4)	2.9 (0.32-36.94)	0.44
<i>Diagnóstico de Asma</i>	3 (7.1)	3 (3.6)	1.9 (0.25-15.35)	0.67

“Seroprevalencia de anticuerpos contra *E. coli* enterohemorrágica O157 en personas sanas y con diferente grado de daño renal.”

Los valores de creatinina encontrados con respecto al sexo y edad que llaman la atención fueron en el sexo femenino entre los 55-65 años con 8 (19.1%) casos con valores >0.8 mg/dL, que muestra una tendencia significativa ($P=0.01$), pero con un OR:0.09 (IC95%:0.00-0.72) (Ver tabla 2).

Tabla 2. Distribución de valores de Creatinina por rangos de edad en la población de estudio.

Edad en años (%)	Valores de Creatinina por edad (mg/dL)	Casos (n=42)	Controles (n=80)	OR (IC 95%)	P
Femenino					
18-24	≤1	0	10 (12.5)	-	-
25-29	≤1	0	3 (3.8)	-	-
30-39	≤0.9	1(2.3)	11(13.8)	-	-
40-54	≤0.9	3 (7.1)	15(18.8)	-	-
55-65	>0.9	1 (2.3)	0	0.09(0.00- 0.72)	0.01
	≤0.8	4 (9.5)	12 (15)		
>65	>0.8	8 (19.1)	2 (2.5)	0.59 (0.03-6.93)	>0.99
	≤0.8	7 (16.7)	3 (3.8)		
	>0.8	8 (19.1)	2 (2.5)		
Masculino					
18-24	≤1.3	1 (2.3)	3 (3.8)	-	-
25-29	≤1.2	0	3 (3.8)	-	-
30-39	≤1.2	0	3 (3.8)	-	-
	>1.2	0	1 (1.3)	-	-
40-54	≤1.1	0	4 (5)	-	-
	>1.1	1 (2.3)	0	-	-
55-65	≤1.1	2 (4.7)	4 (5)	-	-
	>1.1	3 (7.1)	0	-	-
>65	≤1	1 (2.3)	3 (3.8)	0.22 (0.00-8.84)	0.74
	>1	2 (4.7)	1 (1.3)		
Rangos Normales. Femenino; 18-29: ≤1		Masculino; 18-24: ≤1.3			
30-54: ≤0.9		25-39: ≤1.2			
55-65: ≤0.8		40-65: ≤1.1			
>65: ≤0.8		>65: ≤1.			

“Seroprevalencia de anticuerpos contra *E. coli* enterohemorrágica O157 en personas sanas y con diferente grado de daño renal.”

Con respecto a los valores de TFG se encontró que en el sexo femenino mayores de 55 años un 25% (8/32) de los casos presentaron disminución de sus TFG con valores entre 30-44 mL/min y 15-29 mL/min, en comparación a los controles con un 3.4% (2/58) que presentó valores entre 30-44 mL/min. Mientras en el sexo masculino un 60% (6/10) de los casos con valores de TFG entre 30-44 mL/min y 15-29 mL/min, en comparación a los controles con un 4.5% (1/22) con valores de TFG entre 30-44 mL/min (Ver tabla 3).

Tabla 3. Distribución de valores de Tasa de Filtración Glomerular (TFG) en la población a estudio.

Edad en años (%)	TFG (mL/min)	Casos n=42	Control n=80	OR (IC 95%)	P
Femenino					
<i>18-24</i>	≥90	0	10 (12.5)	-	-
<i>25-29</i>	≥90	0	3 (3.8)	-	-
<i>30-39</i>	≥90	1(2.4)	11(13.8)	-	-
<i>40-54</i>	≥90	3 (7.1)	15(18.8)	-	-
	45-59	1 (2.4)	0		
<i>55-65</i>	≥90	4 (9.5)	9 (11.2)	-	-
	60-89	1 (2.4)	5 (6.3)		
	45-59	1 (2.4)	0		
	30-44	3 (7.1)	0		
	15-29	3 (7.1)	0		
<i>>65</i>	≥90	2 (4.7)	3 (3.8)	1 (0.06 - 11.82)	>0.9999
	60-89	7 (16.7)	0		
	45-59	4 (9.5)	0		
	30-44	1 (2.4)	2 (2.5)		
	15-29	1 (2.4)	0		
Masculino					
<i>18-24</i>	≥90	1 (2.4)	2 (2.5)	-	-
	60-89	0	1 (1.2)		
<i>25-29</i>	≥90	0	2 (2.5)	-	-
	60-89	0	1 (1.2)		
<i>30-39</i>	≥90	0	1 (1.2)	-	-
	60-89	0	1 (1.2)		
	45-59	0	1 (1.2)		
	30-44	0	1 (1.2)		
<i>40-54</i>	≥90	0	2 (2.5)	-	-
	60-89	0	2 (2.5)		

“Seroprevalencia de anticuerpos contra *E. coli* enterohemorrágica O157 en personas sanas y con diferente grado de daño renal.”

55-65	15-29	1 (2.4)	0	-	0.079
	≥90	1 (2.4)	4 (5)		
	45-59	1 (2.4)	0		
	30-44	2 (4.7)	0		
>65	<15	1 (2.4)	0	-	0.57
	60-89	0	2 (2.5)		
	45-59	1 (2.4)	2 (2.5)		
	15-29	2 (4.7)	0		

Los valores de *P* obtenidos del cruce de las variables de TFG en rangos normales con los valores alterados según edad.

Con relación a las muestras seropositivas a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) O157 por sexo, los hallazgos a destacar en el sexo femenino 7/32 (21.9%) seropositivos en los casos y 11/58 (18.9%) en los controles. Mientras en el sexo masculino 3/10 (30%) de los casos y 6/22 (27.3%) de los controles fueron seropositivos (Ver tabla 4)

Tabla 4. Distribución de Muestras seropositivas a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) O157 en la población a estudio.

Edad en años n (%)	Casos (n=42)	Controles (n=80)
Femenino		
25-29	0	1(1.3)
30-39	1(2.4)	1(1.3)
40-54	0	4(5)
55-65	2 (4.7)	4 (5)
>65	4 (9.5)	1 (1.3)
Masculino		
25-29	0	2 (2.5)
30-39	0	1 (1.3)
40-54	0	2 (2.5)
55-65	2 (4.7)	1 (1.3)
>65	1 (2.4)	0

“Seroprevalencia de anticuerpos contra *E. coli* enterohemorrágica O157 en personas sanas y con diferente grado de daño renal.”

Al correlacionar el sexo con las TFG tanto en rangos normales como alterados se encontró que 4(28.5%) de los casos del sexo femenino con daño renal y 11 (19.6%) controles sin daño renal fueron seropositivos, respectivamente. Mientras en el sexo masculino 3 (37.5%) de los casos con daño renal y 5 (27.8%) controles sin daño renal fueron seropositivos. En general, se encontró que los sujetos que tienen una TFG alteradas presentan un OR: 2.742 (IC95%: 1.12-7.99) en relación a ser seropositivos que aquellos con TFG normales independiente de su condición de salud. (ver tabla 5).

Tabla 5. Proporción de muestras Seropositivas a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) O157 en casos y controles, con y sin alteración de TFG.

Sexo (%)	Casos	Controles	OR (IC 95%)	P
Femenino				
<i>Pacientes con TFG alterada (n=14, n=2)</i>	4 (28.6)	0		
<i>Pacientes con TFG en rangos normales (n=18, n=56)</i>	3 (16.7)	11 (19.6)	-	-
Masculino				
<i>Pacientes con TFG alterada (n=8, n=4)</i>	3 (37.5)	1 (25.0)		
<i>Pacientes con TFG en rangos normales (n=2, n=18)</i>	0	5 (27.8)	-	-
Total				
<i>TFG Alterada (n=22, n=6)</i>	7 (31.8)	1 (16.7)	2.742 (1.12-7.99)	0.00188
<i>TFG normal (n=20, n=74)</i>	3 (15.0)	16 (21.6)		

Los resultados de OR y P fueron calculados a partir del cruce de variables Caso y Control tanto para TFG Alterada y TFG normal

IX. DISCUSIÓN.

El presente estudio tuvo como gran propósito el determinar la seroprevalencia de anticuerpos de *Escherichia. coli* enterohemorrágica O157, niveles de creatinina sérica y tasas de filtración glomerular en personas sanas y con diferentes grados de daño renal, como un primer paso hacia el entendimiento de la contribución de las infecciones de EHEC O157 con los problemas renales que afectan a una gran parte de la población del occidente de Nicaragua. En ese sentido, nuestros casos estuvieron compuestos hasta en un 90% de individuos diagnosticados con Enfermedad Renal Crónica (ERC), con afectaciones propias dentro de este grupo de enfermos como HTA y Diabetes, en mayor proporción que los individuos controles, 71.4% y 42.8% vs 26.2% y 7.5%, respectivamente. Ha como es de esperarse, sufrir diabetes y HTA se ha asociado al padecimiento ERC en países de bajo y mediano ingreso como el nuestro. Así, el tamizaje regular y el manejo adecuado por parte de los médicos de atención primaria para prevenir resultados adversos (e.j. enfermedades cardiovasculares, ERC terminal y muerte) es clave para este grupo de pacientes. ^(36,37)

Con respecto al funcionamiento renal de los individuos estudiados por medio de mediciones de laboratorio, específicamente niveles de creatinina sérica encontramos que los pacientes que padecían de Enfermedad Renal Crónica o Aguda tenían aumentado este parámetro en un 54.7% en comparación con un 7.5% de los que no tenían (Controles) un diagnóstico de daño renal. Similarmente, el 52.4% de los individuos con ERC o ERA presentaron TFG alteradas en comparación con un 7.5% de los controles. Sin embargo, casi el 50% de los individuos con daño renal no presentaron alteraciones en sus niveles de creatinina sérica ni TFG disminuidas, probablemente, esto debido al hecho que este grupo se encontraba bajo seguimiento médico y con tratamiento farmacológico en el programa de crónicos del SILAIS-León. Contrariamente, un hallazgo muy notorio es que de los 22 pacientes con TFG alteradas el 77.3% (17) presentaron $TFG \leq 30$, lo cual es un indicador de riesgo de progresión rápida hacia una ERC terminal. ⁽³⁷⁾

En el presente estudio no encontramos diferencias de seroprevalencia a EHEC O157 entre los individuos con daño renal (23.8%) versus los controles (21.2%). No obstante, los pacientes con mayor daño renal (31.8%) tendieron ser más comúnmente seropositivos (poseían anticuerpos) a EHEC O157 que aquellos con daño moderado (15.0%) o leve (16.7%) o sin daño alguno (21.6%). Esto sugiere que las infecciones por este serogrupo desempeñan un papel importante entre los causales de daño renal, a como se ha demostrado en otros estudios asociado a Síndrome Urémico Hemolítico que incluye en su triada el desarrollo de Enfermedad Renal Aguda con secuelas de por vida. Por ende se recomienda buscar este y otros serogrupos desde la niñez puesto que se sabe que causan SUH y que muchas veces pasa desapercibido. Además, que se pudiesen hacer descubrimientos nuevos sobre la patogenicidad de este patotipo de *E. coli*.^(37,38)

Finalmente, las principales limitantes del presente estudio son la falta de evidencia serológica contra verotoxinas Stx1 como Stx2, principales causas de las afectaciones renales. También, no se logró estudiar otros serotipos de EHEC que pueden causar daño renal. Luego, un pequeño tamaño de muestra, no se alcanzó a investigar un mayor número de individuos por falta material para el desarrollo de los exámenes de laboratorio y falta de disponibilidad de las personas que estaban dentro de los criterios de inclusión.

X. CONCLUSIÓN.

Se logró determinar la probabilidad de riesgo de ser seropositivo a *E. coli* enterohemorrágica O157, siendo casi tres veces (OR: 2.74 IC:1.12-7.99; P:0.00188) cuando se tiene algún grado de daño renal en comparación a no tener afectación. Además, se encontró que los niveles de creatinina se encontraban alterados en el 7.5% (6/80) de las personas sanas y en el 54.7% (23/42) con diferentes grados de daño renal. Mientras que la tasa de filtración glomerular se encontraba alterada en el 7.5% (6/80) de las personas sanas y el 52.3% (22/42) de los individuos con diferentes grados de daño renal. Paralelamente, al relacionar la seroprevalencia de anticuerpos de EHEC O157 con las tasas de filtración glomerular alterada se observa diferencias significativas ($P=0.00188$) entre las personas sanas 16.7% (1/6) y los individuos con diferentes grados de daño renal 31.8% (7/22). Finalmente, la mayoría (71.4%) de los individuos con diferentes grados de daño renal padecían de HTA en comparación a los individuos sanos (26.2%).

XI. RECOMENDACIONES

Al final del trabajo y como parte de la investigación realizada, nos permitimos hacer las siguientes recomendaciones:

1. Toda persona de 60 años que presente diagnóstico de hipertensión arterial y diabetes mellitus tiene el doble de riesgo de padecer un daño renal por lo tanto deben tener especial cuidado con su alimentación ya que la *Escherichia. coli* productora de toxina Shiga está en los productos de carne picada cruda o poco cocinada, la leche cruda y las hortalizas contaminadas por materia fecal.
2. Al mismo tiempo se recomienda a estos pacientes que al preparar los alimentos en el hogar, hay que seguir las prácticas básicas de higiene de los alimentos, entre ellas la de cocerlos bien ya que *E. coli* productora de toxina Shiga es termosensible.
3. Se recomienda a los facultativos llevar un control exhaustivo de los valores de creatinina de los pacientes con comorbilidades ya que su elevación es un factor coadyuvante para la elevación de tasa de filtración glomerular y esto cause un daño renal.
4. Se recomienda realizar estudios de cohorte para comparar los resultados con estudios retrospectivos y además buscar otros factores de riesgo o definir los ya planteados.
5. Mantener la vigilancia antimicrobiana a nivel intrahospitalario con la posibilidad de unir esfuerzos en la búsqueda de cepas de *E. coli* productora de toxina Shiga para brindar un manejo farmacológico adecuado basado en evidencia microbiológica.
6. Se recomienda que para futuros estudios relacionados con este tema se amplié tanto el número de pacientes como el número de serotipos de *E.coli* que causen el daño renal.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Rivas. García. Et al. Síndrome urémico hemolítico en niños de mendoza, Argentina. Asociación con la infección por escherichia coli. Productora de toxina shiga. Buenos aires. Medicina. 1998. Vol 58. N° 1. Pp 1-7.
- 2- Gadea M, Dr. Varela G, Et al. Primer aislamiento en Uruguay de Escherichia coli productora de toxina Shiga del serotipo O157:H7 en una niña con síndrome urémico hemolítico. Rev Med Uruguay 2004; 20: 79-81.
- 3- Rivero; Padola; et al. Escherichia Coli Entero hemorrágica y Síndrome Urémico Hemolítico en Argentina. Buenos Aires. 2004. N° 64: 352-356.
- 4- Jiménez; Alvarado; et al. Factores de riesgo asociados al aislamiento de Escherichia coli o Klebsiella pneumoniae productoras de betalactamasas de espectro extendido en un hospital de cuarto nivel en Colombia Biomédica. Bogotá, Colombia. Vol, 34, N° 1. 2014, pp. 16-22.
- 5- Paho.org. 2011. *Alerta Epidemiológica: Síndrome hemolítico urémico (SHU) e infección por E. coli enterohemorrágica (EHEC)*. [online] Disponible en: <<https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2011/alerta-epi-2011-28-junio-brote-STECC>>.
- 6- Ibarra; Goldstein; et al. Síndrome Urémico Hemolítico Inducido por Escherichia Coli Entero hemorrágico. Arch Argent Pediatr 2008; 106(5):435-442 / **435**.
- 7- Vanegas; Echeverry; et al. Malformaciones urológicas asociadas y desarrollo de enfermedad renal crónica en pacientes pediátricos con diagnóstico de infección urinaria que consultaron al Hospital Universitario San Vicente de Paúl (Medellín, Colombia) entre los años 1960-2010. Iatrevia 2013. Vol, 26 (1): 5-14.
- 8- González; Rojas. Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. México. 2005. Vol,47. N° 5.

- 9- Cabrera, S. Definición y clasificación de los estadios de la enfermedad renal crónica. Prevalencia. Claves para el diagnóstico precoz. Factores de riesgo de la enfermedad renal crónica. Nefrología. 2004. Vol 24.
- 10- Sellarés, V. Enfermedad Renal Crónica. SEN. 2006. Pp 335-351.
- 11- Leotta, G. *Escherichia coli* productor de Shiga: un ejemplo y desafío. Buenos Aires. Anales ANAV. 2016.
- 12- Oderiz. Leotta. Et al. Detección y caracterización de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga en niños atendidos en un hospital pediátrico interzonal de la ciudad de La Plata. Buenos Aires. aam. Elsevier. 2018.
- 13- Campistol. Areas. Et al. Actualización en síndrome hemolítico urémico atípico: diagnóstico y tratamiento. Documento de consenso. SEN. 2015. 35(5): 421-447.
- 14- Varela, A. Schelotto F. Síndrome urémico hemolítico en Uruguay. Aspectos microbiológicos y clínicos, aporte para su conocimiento regional. Uruguay. UDES. 2015. pp 25-30.
- 15- Pérez-Cano J. Héctor, Robles-Contreras Atzín. Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. Revista Médica MD. 2013 4(3):186- 191pp Publicado en línea 01 de mayo, 2013; www.revistamedicamd.com }
- 16- Pistone. Nuñez. Et al. Papel de la toxina shiga en el síndrome urémico hemolítico. Paraguay. UBA. 2006. 66(3). pp 11-15.
- 17- Fernández. Betancor. Et al. Actualización en el tratamiento del síndrome urémico hemolítico endémico. Patogénesis y tratamiento de la complicación sistémica más grave de las infecciones por *Escherichia coli* productor de toxina shiga. Medicina. Buenos Aires. 2011. Vol 71. N° 4.
- 18- Hiriart. Pardo. Et al. Desarrollo de un producto antitoxina shiga para la prevención del SUH. Buenos Aires. Inmunova S,A. 2018. Vol 78. pp: 107-112.
- 19- Rondriguez, A. Principales características y diagnósticos de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. México. Salud pública de México. Vol 44. N° 5. pp464-475.
- 20- Ramirez. Monteverde. Et al. Síndrome urémico hemolítico por *Escherichia coli* productora de toxina de shiga en un paciente pediátrico con trasplante renal. Nefrología, diálisis y trasplante. 2015. Vol 35(4). Pp: 202-207.

- 21- Montero; Navarro; et al. Detección y caracterización preliminar de Escherichia Coli 0174 productor de toxina. SNS. 2015. N° 8. https://digital.cic.gba.gob.ar/bitstream/handle/11746/5746/11746_5746.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- 22- Barrios. Hidalgo. Enfermedades crónicas no transmisibles (enfermedad renal crónica). Managua-Nicaragua. UNAN. 2016.
- 23- Rubio. Kangsen. Enfermedad renal crónica en Nicaragua.: análisis cualitativos de entrevistas semiestructuradas con médicos y farmacéuticos. Nicaragua. 2011.
- 24- Etcheverria. Bustamante. Et al. Síndrome urémico hemolítico: eco-epidemiología del enemigo que afecta la seguridad alimentaria. Buenos aires. CIVETAN. 2011
- 25- Pineda M, Arias G, Suarez F, Bestidas A, Avila V. factores de riesgo para el desarrollo de infección de vías urinarias por microorganismos productores de betalactamasas espectro extendido adquirido en la comunidad en dos hospitales de bogota D.C Colombia Infectio 2017; (21)3: 141-147.
- 26- Cigarran S, Gonzalez E, Cases A. Microbiota intestinal en la enfermedad renal crónica. Sociedad española 2017; 37(1): 9-19.
- 27- Ramirez A, Monteverde M, Ivanez J, Balbarey Z, Sala J, Roldan G. Síndrome urémico hemolítico por Escherichia productora de toxinas de chiga en un paciente pediátrico con trasplante renal. Nefrología diálisis y trasplante 2015; vol 35- N° 4. Pag 202-207.
- 28- Melgarejo, Laura E; Valinotte, Vania A; Lird, Maria G; Velazquez, Gladys R; Chirico, Cesar E. Estudios preliminar de infecciones urinarias intrahospitalarias en sala de clínica médica de un hospital público de san Lorenzo. Facultad de ciencias medicas, universidad nacional de asunción, san lorenzo, paraguay. Vol 51- N° 2, 2018.
- 29- Harrison, Principios de Medicina interna, 16 ed. Dennis L. Kasper, Eugene Braunwald, Anthony S. Fauci, Stephen L. Hauser, Dan L. Longo, J. Larry Jameson, y Kurt J. Isselbacher, Eds.

- 30- Walsh Patrick Cambell. Urología. tomo 3. 8va edición, 2004. Editorial Médica Panamericana.
- 31- Farreras Valenti, Rozman Cesar, Medicina Interna 17 ed., editorial ELSEVIER, Madrid, España 2012.
- 32- Farfan A, Ariza S, Vargas F et all. y Mecanismos de virulencia de Escherichia coli enteropatógena. Santander, Colombia. 2016; 439-443.
- 33- *Mecanismos de virulencia de Escherichia coli enteropatógena*. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter (pp. 439-443). Retrieved 26 July 2016, La Habana Cuba.
- 34- Saballos González C, Solís Carbajal, O. (2016). *Etiología de la diarrea aguda en niños menores de 5 años atendidos en el Hospital Infantil Manuel de Jesús Rivera, en el período de enero a febrero 2015*. Médico general. UNAN-Managua, Nicaragua.
- 35- Chen TK, Knicely DH, Grams ME. Chronic Kidney Disease Diagnosis and Management: A Review. JAMA. 2019 Oct 1;322 (13):1294-1304.
- 36- Decludt B, Bouvet, et all. Haemolytic uraemic syndrome and Shiga toxin-producing Escherichia coli infection in children in France. The société de Néphrologie Pédiatrique. Epidemiol Infect. 2000 Apr,124(2):215-20.
- 37- Kulkarni H, Goldwater PN, Martin A, Bettelheim KA. Escherichia coli 'O' group serological responses and clinical correlations in epidemic HUS patients. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2002 Jul;25(4):249-68.
- 38- WHO Global Salm Surv Rivas M, Miliwebsky E & Deza N. Manual de Procedimientos Diagnóstico y caracterización de Escherichia coli O157 productor de toxina Shiga a partir de especímenes clínicos. Departamento Bacteriología Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas ANLIS “Dr Carlos G Malbrán”. Centro Regional de Referencia del WHO Global Salm Surv para América del Sur. 2007. pag. 6-25.

- 39- Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud. (OPS/OMS). (2013). Enfermedad renal crónica en comunidades agrícolas de Centroamérica. 52° Consejo Directivo. 65ª Sesión del Comité Regional. CD52/8 (Esp.). Washington, D.C., EUA. Recuperado de: www.paho.org/hq/index.php?option=com_content...id...
- 40- Abboud H, Henrich WL. Clinical practice. Stage IV chronic kidney disease. *N Engl J Med*.
- 41- Tzu-Ming Pan, Li-Ming Chen & Yuan-Chi Su. Identification of *Escherichia coli* O157:H7 by multiplex PCR with primers specific to the *hlyA*, *eaeA*, *stx1*, *stx2*, *fliC* and *rfb* genes. *J Formos Med Assoc* 2002; 101: 661-664.
- 42- Paniagua M, Espinoza F, Ringman M, Reizenstein E, Svennerholm A & Hallander H. Analysis of incidence of infection with enterotoxigenic *Escherichia coli* in a prospective cohort study of infant diarrhea in Nicaragua. *J Clin Microbiol* 1997; 35:1404-1410.
- 43- Brooks J, Geo F, Butel S, Janet S, Ornston L & Nicholas L. *Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*. 17a ed. Cap 16. El Manual Moderno, México, D.F. 1998.

XIII. ANEXOS

Anexo 1:

Direct Creatinine LiquiColor® Procedure N° BP999

For the quantitative kinetic determination of creatinine in serum, plasma and urine.

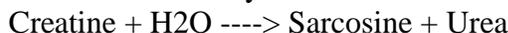
Summary and Principle

Creatine is a catabolic product of creatinine, which is used in skeletal muscle contraction. The daily production of creatine, and subsequently creatinine, depends on muscle mass, which fluctuates very little. Creatinine is excreted entirely by the kidneys and therefore is directly proportional to renal excretory function. Thus with normal renal excretory function, the serum creatinine level should remain constant and normal. Only renal disorders, such as glomerulonephritis, pyelonephritis, acute tubular necrosis, and urinary obstruction, will cause an abnormal elevation in creatinine. The kits method employs a two reagent system which eliminates interference by endogenous creatinine and ascorbic acid.

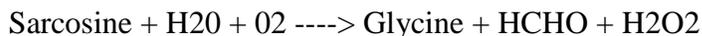
Creatinine amidohydrolase



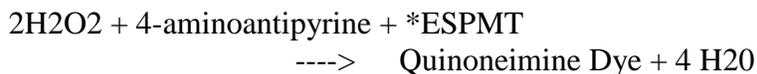
Creatine amidinohydrolase



Sarcosine oxidase



Peroxidase



*ESPMT: N-ethyl-N-sulfopropyl-m-toluidine.

Reagents

Creatinine Enzyme Buffer Reagent (R1), #BP999a; 20vials for 6.5 ml each

Good Buffer (pH 7.4) 25 mmol/L

Creatine amidinohydrolase > 25 KU/L

Sarcosine oxidase > 7 KU/L

Ascorbate oxidase > 4 KU/L

ESPMT 140 mg/L

Creatinine Enzyme Color Reagent (R2), #BP999b

Good Buffer (pH 7.3) 100 mmol/L

Creatinine amidohydrolase > 250 KU/L

Peroxidase > 5 KU/L

4-aminoantipyrine 600 mg/L

ESPMT 140mg/L

Creatinine Standard - 5 mg/dL, Cat. #BP999c

Aqueous solution of creatinine zinc chloride.

Precautions: For in Vitro Diagnostic Use Contains sodium azide. Sodium azide may react with lead or copper plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal, flush with a large volume of water to prevent azide build-up.

Reagent Preparation: Reconstitute reagent with distilled water as indicated on vial label. Invert gently and swirl to dissolve completely.

Reagent Storage and Stability: Reagents are stable until expiration dates found on their labels when stored at 2 - 8 °C. Creatinine Standard is stable until the date of its expiration when properly stored at 15-30°C.

Materials Required But Not Provided

Spectrophotometer capable of absorbance readings at 510 nm.

Accurate pipetting devices.

Constant temperature block or bath (37°C)

Interval timer Cuvets Test Tubes Mixer (Vortex type)

Specimen Collection and Preparation

Serum: Remove specimen from clot promptly to prevent hemolysis. Do not use fluoride or ammonium heparinate to collect sample.

Sample Stability: Creatinine values have a reported stability of one day at 2-8°C, and several months when frozen (-20°C) and protected from evaporation and contamination. Store urine at 2- 8°C.

Interfering Substances: No interference was observed by ascorbic acid up to 200 mg/dL, hemoglobin up to 500 mg/dL, bilirubin-conjugate up to 32 mg/dL, and bilirubin-free up to 40 mg/dL. An extensive list of drugs or other agents interfering with creatinine methodologies has been reported by Young et al:

Manual Procedure

1. Pipet into cuvettes labeled Blank (Bl), K (Calibrator), and S (Specimen) the following volumes (µL).

“Seroprevalencia de anticuerpos contra *E. coli* enterohemorrágica O157 en personas sanas y con diferente grado de daño renal.”

	BI	Std		S
Reagent 1 (R1)	270	270	-	270
Standard (Std)	-	6	-	-
Sample	-	-	-	6
Water	6	-	-	-

2. Mix, incubate for 5 min @ 37 °C, read absorbance A1, then:
3. add 90µL of Reagent 2 (R2), mix and incubate for 5 min @ 37 °C
4. read absorbance A2.

Quality Control: Two (2) levels of control material with known Creatinine levels determined by this method, should be analyzed each day of testing.

Results

Values are derived by comparing the absorbance change (E) of the specimen (S) with that of a standard (Std) and subtracting the (BI) reading from both with samples and standard identically treated.

Performance Characteristics

Data obtained on Hitachi 717

Correlation: Serum specimens (n = 30) were assayed by this method and by another commercial method. Statistical analysis revealed a correlation coefficient (r) of 0.9991, with a regression equation of $y = 1.4815x - 0.5831$. Urine specimens (n = 37) were assayed by this method and by another commercial method. Statistical analysis revealed a correlation coefficient (r) of 0.9854, with a regression equation of $y = 1.0545x + 0.3607$.

Precision: (Performed according to NCCLS EP-5)

Mean (mg/dL)	SD	CV%
In Series (Intra Assay)		
0.610	0.007	1.14
1.107	0.009	0.84
5.733	0.02	0.41
Day to Day (Inter Assay)		
0.629	0.008	1.98
1.134	0.011	0.98
5.814	0.022	0.38

Sensitivity: Based on an instrument resolution of A = 0.001, the method presented shows a sensitivity of 0.04 mg/dL.

Linearity: (Performed according to NCCLS EP6-P2) When performed as directed, it is linear to 30 mg/dL. Samples exceeding this value should be diluted 2-fold (1+1) with deionized water, the assay repeated and results multiplied by.



Anexo 2:

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León (UNAN-León)

Instrumento de recolección de datos para participar en un estudio de investigación de adultos en el hogar.

Formulario biomédico.

Nº de estudio del IRB: Acta No. 136

Título del estudio: "Seroprevalencia de anticuerpos de *E. coli* enterohemorrágica en personas sanas y con diferente grado de daño renal"

Fecha de versión del formulario de consentimiento: 09 de Marzo 2020, versión 2.0

Investigadores principales: Samuel Vilchez, PhD (UNAN-León), Derman Rafael Herrera Leiva, candidato a Doctor en Medicina y Cirugía General (UNAN-León), Jossimar Aldomaro Medina Altamirano, candidato a Doctor en Medicina y Cirugía General.

Origen del financiamiento: Centro de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, UNAN-León

Número telefónico del contacto del estudio: (C) 84466701 (Derman Herrera), (M) 8765,0108 (Jossimar Medina), 2311 0022 ext 2155 (Dr. Samuel Vilchez)

Correo electrónico del contacto del estudio: samuelyvilchez@gmail.com,

dermanherrera96@gmail.com, medina.jossimar3@gmail.com

No. de ficha: _____

Fecha: ____/____/____

Datos epidemiológicos:	
1. Sexo:	<input type="checkbox"/> Femenino <input type="checkbox"/> Masculino
2. Fecha de nacimiento.	Escriba edad en años cumplidos: _____ Fecha de nacimiento _____
3. Raza.	<input type="checkbox"/> Blanca <input type="checkbox"/> Mestiza <input type="checkbox"/> Indígena <input type="checkbox"/> Negra <input type="checkbox"/> Otro En caso de responder "Otro" especifique el tipo de raza al que pertenece: _____
4. Estado civil.	<input type="checkbox"/> Soltero <input type="checkbox"/> Casado <input type="checkbox"/> Unión de hecho estable <input type="checkbox"/> Viudo <input type="checkbox"/> Otro En caso de responder "Otro" especifique su estado Civil: _____
5. Escolaridad.	<input type="checkbox"/> Ninguna <input type="checkbox"/> Alfabetizada <input type="checkbox"/> Primaria <input type="checkbox"/> Secundaria <input type="checkbox"/> Técnico <input type="checkbox"/> Universitario
6. Ocupación.	¿Actualmente se encuentra laborando? <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No En caso de responder "Si" especifique la labor que desempeña: _____

Comorbilidades	
<p>7. ¿Tiene usted el diagnóstico de HTA?</p>	<p align="center"><input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p>En caso de responder "Sí" contestar las siguientes preguntas: ¿Hace cuánto padece de esta enfermedad? _____ ¿Conoce algunos de los síntomas que padece?</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No , Al contestar "Si" continúe con los siguientes acápites: Síntomas que usted padece:</p> <p><input type="checkbox"/> Sudoraciones <input type="checkbox"/> Palpitaciones <input type="checkbox"/> Tinnitus <input type="checkbox"/> Cefalea <input type="checkbox"/> Nauseas <input type="checkbox"/> Fosfenos <input type="checkbox"/> Dolor precordial <input type="checkbox"/> Dolor retroorbitario</p>
<p>8. ¿Tiene usted el diagnóstico de Diabetes?</p>	<p align="center"><input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p>En caso de responder "Sí" contestar las siguientes preguntas: ¿Hace cuánto padece de esta enfermedad? _____ ¿Conoce algunos de los síntomas que padece?</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No , Al contestar "Si" continúe con los siguientes acápites: Síntomas que usted padece:</p> <p><input type="checkbox"/> Polidipsia <input type="checkbox"/> Polifagia <input type="checkbox"/> Pérdida de peso <input type="checkbox"/> Poliuria <input type="checkbox"/> Visión borrosa <input type="checkbox"/> Fatiga <input type="checkbox"/> Trastorno del sueño</p>
<p>9. ¿Tiene usted el diagnóstico de Enfermedad Renal Aguda?</p>	<p align="center"><input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p>En caso de responder "Sí" contestar las siguientes preguntas: ¿Hace cuánto padece de esta enfermedad? _____ ¿Conoce algunos de los síntomas que padece?</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No , Al contestar "Si" continúe con los siguientes acápites: Síntomas que usted padece:</p> <p><input type="checkbox"/> Edema <input type="checkbox"/> Disminución de la diuresis <input type="checkbox"/> Astenia <input type="checkbox"/> Disnea</p>

“Seroprevalencia de anticuerpos contra *E. coli* enterohemorrágica O157 en personas sanas y con diferente grado de daño renal.”

	<input type="checkbox"/> Vómitos <input type="checkbox"/> Dolor precordial <input type="checkbox"/> Desorientación.
<p>10. ¿Tiene usted el diagnóstico de Enfermedad renal crónica?</p>	<p align="center"><input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p>En caso de responder “Sí” contestar las siguientes preguntas: ¿Hace cuánto padece de esta enfermedad? _____ ¿Se realiza usted Diálisis? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No , Al contestar “Si” continúe con los siguientes acápite: Tipo _____ Frecuencia _____ ¿Conoce algunos de los síntomas que padece? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No , Al contestar “Si” continúe con los siguientes acápite: a) Síntomas que usted padece: <input type="checkbox"/> Taquicardia <input type="checkbox"/> Aliento urémico <input type="checkbox"/> Piel de tono ocre <input type="checkbox"/> Cefalea <input type="checkbox"/> Nauseas <input type="checkbox"/> Vómitos <input type="checkbox"/> Claudicaciones <input type="checkbox"/> Somnolencia ¿Usted conoce el grado o estadio de su enfermedad? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No; Si su respuesta es “Si” continuar al siguiente acápite. En caso de contestar “No” obviar el siguiente acápite Nota: De ser necesario, las personas encargadas de la realización de esta investigación contestar el siguiente acápite. b) Grado o estadio de ERC: • G1 Normal o elevado • G2 Ligeramente disminuido • G3a Ligera a moderadamente disminuido • G3b Moderada a gravemente disminuido • G4 Gravemente disminuido • G5 Fallo renal</p>

“Seroprevalencia de anticuerpos contra *E. coli* enterohemorrágica O157 en personas sanas y con diferente grado de daño renal.”

<p>11. ¿Tiene usted el diagnóstico de Artritis?</p>	<p align="center"><input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p>En caso de responder “Sí” contestar las siguientes preguntas: ¿Hace cuánto padece de esta enfermedad? _____ ¿Conoce algunos de los síntomas que padece? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No , Al contestar “Si” continúe con los siguientes acápites: Síntomas que usted padece: <input type="checkbox"/> Dolor Articular <input type="checkbox"/> Inflamación articular <input type="checkbox"/> Enrojecimiento articular <input type="checkbox"/> Rigidez articular <input type="checkbox"/> Deformidad de la articulación</p>
<p>12. ¿Tiene usted el diagnóstico de Enfermedad pulmonar obstructiva crónica EPOC?</p>	<p align="center"><input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p>En caso de responder “Sí” contestar las siguientes preguntas: ¿Hace cuánto padece de esta enfermedad? _____ ¿Conoce algunos de los síntomas que padece? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No , Al contestar “Si” continúe con los siguientes acápites: Síntomas que usted padece: <input type="checkbox"/> Disnea <input type="checkbox"/> Tos crónica <input type="checkbox"/> Ruidos respiratorios <input type="checkbox"/> Expectoración crónica <input type="checkbox"/> Vómitos <input type="checkbox"/> Sensación de presión en el pecho.</p>
<p>13. ¿Tiene usted el diagnóstico de Cardiopatías?</p>	<p align="center"><input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p>En caso de responder “Sí” contestar las siguientes preguntas: ¿Hace cuánto padece de esta enfermedad? _____ ¿Conoce algunos de los síntomas que padece? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No , Al contestar “Si” continúe con los siguientes acápites: Síntomas que usted padece:</p>

“Seroprevalencia de anticuerpos contra *E. coli* enterohemorrágica O157 en personas sanas y con diferente grado de daño renal.”

	<input type="checkbox"/> Taquicardia <input type="checkbox"/> Edema en miembros inferiores <input type="checkbox"/> Soplos <input type="checkbox"/> Cansancio <input type="checkbox"/> Dolor precordial <input type="checkbox"/> Mareos.
14. ¿Tiene usted el diagnóstico de Osteoporosis?	<p align="center"><input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p>En caso de responder “Sí” contestar las siguientes preguntas: ¿Hace cuánto padece de esta enfermedad? _____ ¿Conoce algunos de los síntomas que padece? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No , Al contestar “Si” continúe con los siguientes acápites: Síntomas que usted padece: <input type="checkbox"/> Abdomen prominente <input type="checkbox"/> Encorvamiento de la columna <input type="checkbox"/> Deformidades espinales <input type="checkbox"/> Dolor de espalda</p>
15. ¿Tiene usted el diagnóstico de asma?	<p align="center"><input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No</p> <p>En caso de responder “Sí” contestar las siguientes preguntas: ¿Hace cuánto padece de esta enfermedad? _____ ¿Conoce algunos de los síntomas que padece? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No , Al contestar “Si” continúe con los siguientes acápites: Síntomas que usted padece: <input type="checkbox"/> Tos nocturna <input type="checkbox"/> Dificultad para respirar <input type="checkbox"/> Dolor de pecho <input type="checkbox"/> Labios y manos de color azul <input type="checkbox"/> Pulso rápido</p>
Datos de laboratorio	
16. Creatinina	Especificar el valor exacto de Creatinina encontrada en la muestra: _____ mg/dL

"Seroprevalencia de anticuerpos contra *E. coli* enterohemorrágica O157 en personas sanas y con diferente grado de daño renal."

17. Tasa de Filtración Glomerular	Escribir valor exacto de Tasa de Filtración Glomerular encontrado: _____ mL/min	
18. Test de ELISA	Escribir valor exacto de ser positivo: _____ Abu/mL	<input type="checkbox"/> Reactor <input type="checkbox"/> No Reactor



Anexo: 3

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León (UNAN-León)

Consentimiento para participar en un estudio de investigación^[SEP] de adultos en el hogar.

Formulario biomédico.

Nº de estudio del IRB: Acta No. 136

Título del estudio: "Seroprevalencia de anticuerpos de *E. coli* enterohemorrágica en personas sanas y con diferente grado de daño renal"

Fecha de versión del formulario de consentimiento: 09 de Marzo 2020, versión 2.0

Investigadores principales: Samuel Vilchez, PhD (UNAN-León), Derman Rafael Herrera Leiva, candidato a Doctor en Medicina y Cirugía General (UNAN-León), Jossimar Aldomaro Medina Altamirano, candidato a Doctor en Medicina y Cirugía General (UNAN-León)

Origen del financiamiento: Centro de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, UNAN-León

Número telefónico del contacto del estudio: (C) 84466701 (Derman Herrera), (M) 8765,0108 (Jossimar Medina), 2311 0022 ext 2155 (Dr. Samuel Vilchez)

Correo electrónico del contacto del estudio: samuelyvilchez@gmail.com, dermanherrera96@gmail.com, medina.jossimar3@gmail.com

Algunas cosas importantes que Usted necesita saber sobre los estudios de investigación:

Usted está siendo invitado a participar en un estudio de investigación porque probablemente durante su vida ha estado expuesto a una bacteria llamada *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC). Esta bacteria no solo puede causar diarrea infantil, también puede provocar daño renal. La participación es voluntaria. Usted puede negarse a participar, también puede retirarse en cualquier momento, por cualquier razón.

Los estudios de investigación están diseñados para obtener nuevos conocimientos. Esta nueva información podría ser útil a las personas en el futuro. Es posible que usted no reciba beneficio directo alguno por participar en esta investigación; además, existen riesgos al hacerlo. La decisión de no participar en la investigación o dejar de participar no afectará su

relación con los investigadores, ni con el prestador de atención médica. No es necesario que participe en la investigación para recibir atención médica.

A continuación, describimos los detalles de esta investigación. Es importante que usted comprenda esta información para que pueda tomar una decisión consciente respecto a participar en esta investigación. Le entregaremos una copia de este consentimiento. En cualquier momento, Usted podrá plantear, a los investigadores nombrados anteriormente o a miembros del personal que lo asiste, las dudas o preguntas que tengan acerca de esta investigación.

¿Cuál es el propósito de esta investigación?

El propósito de este estudio de investigación es dar los primeros pasos hacia comprender mejor una enfermedad Insuficiencia Renal, para ello queremos determinar la seroprevalencia de anticuerpos de EHEC en personas tanto sanas como con diferentes grados de daño renal.

Se le pide su participación en este estudio debido de que Ud. probablemente durante su vida ha estado expuesto a EHEC. Si usted participa en este estudio, vamos a recoger muestra de Sangre a Ud. y pedirle que complete un breve cuestionario sobre datos clínicos y epidemiológicos. Su participación en este estudio nos dará información sobre la circulación de EHEC y su probable asociación con la enfermedad renal en el país.

¿Cuántas personas participarán en este estudio de investigación? Tenemos la intención de solicitar a 200 personas sanas y con diferentes grados de afectación renal a participar en este estudio.

¿Cuánto durará la participación de usted en este estudio? La duración de su participación en este estudio será una visita. La participación en este estudio incluirá una visita del personal del estudio para administrar una encuesta y recoger una muestra de sangre.

¿Qué sucederá si usted participa en este estudio de investigación?

Si usted decide a participar en este estudio, personal del estudio le pedirá a Ud completar un breve cuestionario sobre sus recientes afectaciones actuales y sobre exposiciones incluyendo lo que ha comido fuera de su hogar, contacto con aguas de recreo, contacto con personas con diarrea o vómitos. Si están teniendo síntomas de diarrea o vómitos, también vamos a preguntar sobre eso. Por último, vamos a pedirle una muestra de sangre.

¿Cuáles son los beneficios posibles al participar en esta investigación? Aunque puede no haber ningún beneficio directo para participantes, ayudará a los investigadores a generar nuevos conocimientos sobre la enfermedad Insuficiencia Renal y su relación con EHEC que pueden beneficiar a la sociedad.

¿Cuáles son los riesgos o molestias posibles al participar en esta investigación? Los riesgos potenciales para los participantes en el estudio son mínimos.

- Ud. puede sentir vergüenza al donar la muestra de sangre o completar los cuestionarios.
- También existe la posibilidad de que los demás se enteren de su participación en el estudio. Haremos todo lo posible para proteger su privacidad. También vamos a eliminar su nombre de las muestras antes de su almacenamiento.

Además, puede haber riesgos no comunes o previamente desconocidos que podrían ocurrir. Usted debe reportar cualquier problema a los investigadores.

¿Cómo protegeremos la información personal?

Para proteger su privacidad, el personal del estudio buscará el lugar más privado disponible para solicitar su participación en el estudio. Vamos a proteger a todos los documentos del estudio en una oficina cerrada con llave y los archivos de computadora que incluyen su información serán garantizados bajo la protección de contraseña. Sólo los miembros del estudio que necesitan acceso tendrán acceso a estos archivos.

Los nombres serán retirados de recipientes de las muestras y se sustituye con números de identificación antes de que se almacenan.

Ninguno de los sujetos se identificará en ningún informe o publicación de este estudio. Aunque se hará todo lo posible para mantener documentos de la investigación privada, puede haber momentos en los que la ley federal o estatal requiere la revelación de tales registros, incluyendo información personal. Esto es muy poco probable, pero si alguna vez se requiere la revelación, UNAN-León tomará las medidas permitidas por la ley para proteger la privacidad de la información personal. En algunos casos, la información en este estudio de investigación podría ser revisada por representantes de la Universidad, patrocinadores de investigación, o agencias gubernamentales para fines tales como el control de calidad o la seguridad.

¿Qué hacer si Ud. quiere retirar de la investigación antes de que concluya? Ud. puede retirarse de la investigación en cualquier momento y sin consecuencia.

¿Recibirá Ud. algo por participar en este estudio de investigación? No va a recibir nada por participar en el estudio.

¿Le costará algo su participación en esta investigación? No le costará nada su participación en esta investigación.

¿Quiénes patrocinan esta investigación? Esta investigación está financiada por el Centro de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, UNAN-León. En este caso, el patrocinador NO le paga al equipo de investigación por la realización del estudio. Además, los investigadores no tienen un interés financiero directo con el patrocinador ni con los resultados de la investigación.

¿Qué hacer si usted tienen preguntas acerca de esta investigación? Usted tiene el derecho a preguntar y a que les respondan toda pregunta que tengan acerca de esta investigación. Si tuvieran preguntas acerca del estudio de investigación, quejas, inquietudes o si ocurriera una

lesión relacionada con la investigación, deberían contactar a los investigadores mencionados en la primera página de este consentimiento.

¿Qué hacer si tiene preguntas acerca de sus derechos como participante de una investigación? Toda investigación realizada con voluntarios humanos es examinada por un comité que trabaja para proteger sus derechos y bienestar. Si tiene preguntas o inquietudes acerca de los derechos de su niño/a como sujeto de una investigación o si quiere obtener información u ofrecer su aportación, puede comunicarse con el Comité de Ética para la Investigación Biomédica, Dra. Nubia Pacheco, (505) 2311-3731, durante las horas: 12 to 2 pm and 5 to 7 pm.

Acuerdo del participante:

He leído toda la información anterior. He planteado todas las preguntas que tengo en este momento. **Autorizo voluntariamente mi participación en este estudio de investigación.**

Nombre del participante en la investigación.

Firma del participante.

Fecha.

Nombre del miembro del equipo de investigación que obtiene el permiso.

Firma del miembro del equipo de investigación que obtiene el permiso.

Fecha.

Anexo: 4



Hereby Certifies that

**JOSSIMAR ALDOMARO
MEDINA ALTAMIRANO**

has completed the e-learning course

RESEARCH ETHICS

with a score of

94%

on

09/06/2019

This e-learning course has been formally recognised for its quality and content by the following organisations and institutions



Hereby Certifies that

**DERMAN RAFAEL HERRERA
LEIVA**

has completed the e-learning course

RESEARCH ETHICS

with a score of

99%

on

10/06/2019

This e-learning course has been formally recognised for its quality and content by the following organisations and institutions