

EPIDEMIOLOGIA DEL SINDROME UREMICO HEMOLITICO EN ARGENTINA. DIAGNOSTICO DEL AGENTE ETIOLOGICO, RESERVORIOS Y VIAS DE TRANSMISION

MARTA RIVAS, ELIZABETH MILIWEBSKY, ISABEL CHINEN, NATALIA DEZA, GERARDO A. LEOTTA

*Servicio Fisiopatogenia, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas –
ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Buenos Aires*

Resumen *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) causa casos esporádicos y brotes de diarrea con o sin sangre y síndrome urémico hemolítico (SUH). El serotipo O157:H7 es prevalente, pero existen otros serotipos (O26:H11; O103:H2; O111:NM; O121:H19; O145:NM, entre otros) asociados a enfermedad humana severa. Las toxinas Shiga (Stx1, Stx2 y sus variantes), la proteína intimina, y la enterohemolisina son los principales factores de virulencia. Para establecer la asociación entre enfermedad e infección por STEC se utilizan tres criterios diagnósticos: 1) aislamiento y caracterización del patógeno; 2) detección de Stx libre en materia fecal; y 3) detección de anticuerpos anti-Stx. La vigilancia de las cepas circulantes se realiza mediante técnicas de subtipificación: a) genotipificación de Stx y *eae* por PCR-RFLP; b) fagotipificación de cepas O157; y c) electroforesis de campos pulsados. Cepas STEC O157 y no-O157 se aíslan en muestras de diferentes orígenes: humano, animales, alimentos y medio ambiente, y O157:H7 productor de Stx2/Stx2c, *eae* y *ehxA*-positivo es el serotipo más frecuente. En un estudio caso-control realizado en Buenos Aires y Mendoza en el 2001-2002, se identificaron como factores de riesgo: comer carne mal cocida, estar en contacto con niños con diarrea, y vivir/visitar un lugar con animales domésticos. Lavarse las manos con agua y jabón después de manipular carne cruda, y comer frutas y verduras, fueron identificados como factores protectores. El conocimiento de estos factores contribuirá en la implementación de estrategias de prevención y control fundamentales para disminuir la morbi-mortalidad asociada al SUH.

Palabras clave: SUH, STEC, diagnóstico microbiológico, vigilancia epidemiológica

Abstract *The epidemiology of hemolytic uremic syndrome in Argentina. Diagnosis of the etiologic agent, reservoirs and routes of transmission.* Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) cause sporadic cases and outbreaks of nonbloody and bloody diarrhea, and hemolytic uremic syndrome (HUS). *E. coli* O157:H7 is the most prevalent STEC serotype. However, other serotypes (O26:H11; O103:H2; O111:NM; O121:H19; O145:NM, among others) can cause a similar disease spectrum. Shiga toxins (Stx1, Stx2, and their variants), intimin, and enterohemolysin are the main virulence factors. Three different diagnostic criteria are used to determine the frequency of STEC infection: 1) isolation and characterization of STEC strains; 2) detection of specifically neutralizable free fecal Stx; and 3) Serological tests to detect Stx-antibodies. The surveillance of the STEC strains is performed using subtyping techniques: a) genotyping of Stx and *eae* by PCR-RFLP; b) phage typing of *E. coli* O157 strains; and c) pulsed-field gel electrophoresis. STEC O157 and non-O157 strains are recovered from clinic, animal, food and environmental samples, and *E. coli* O157:H7, a Stx2 and Stx2c producer, harboring *eae* and *ehxA* genes, is the most common serotype. During a prospective case-control study conducted to evaluate risk factors for sporadic STEC infection in Mendoza Province and Buenos Aires City and its surroundings during 2001-2002, exposures associated with risk included eating undercooked beef, contact with a child <5 years with diarrhea and living in or visiting a place with farm animals. Both washing hands after handling raw beef, and eating fruits and vegetables were frequently protective. Strategies of prevention and control are necessary to decrease the incidence of STEC infections in Argentina.

Key words: HUS, STEC, microbiologic diagnosis, epidemiologic surveillance

El síndrome urémico hemolítico (SUH) es una entidad clínica y anatomopatológica caracterizada por presentación aguda de daño renal, anemia hemolítica

microangiopática y trombocitopenia, que puede afectar otros parénquimas como intestino, páncreas, corazón y sistema nervioso central¹.

Esta enfermedad sindrómica puede presentar dos formas, una típica de etiología infecciosa y de características endemoepidémicas, que está precedida por un período prodrómico con diarrea, generalmente sanguinolenta, y que puede presentar además fiebre, vómi-

Dirección Postal: Dra. Marta Rivas, INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Av. Vélez Sarsfield 563, 1281 Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Fax: (54-11) 4303-1801

e-mail: mrivas@anlis.gov.ar

tos y dolor abdominal. La forma atípica puede ser desencadenada por distintos cuadros como neoplasias, hipertensión arterial, rechazo de trasplante renal, uso de anticonceptivos orales, drogas, post parto, etc.

El agente etiológico

Se ha reconocido a *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC), como agente causal de la forma post-enterica de SUH². Otros agentes infecciosos como *Shigella dysenteriae* tipo 1, *Campylobacter* sp., *S. pneumoniae*, entre otros, han sido asociados a casos de SUH.

Escherichia coli O157:H7, identificado por primera vez como patógeno humano en 1982, es el serotipo prevalente asociado a grandes brotes y casos esporádicos de colitis hemorrágica (CH) y SUH³. Sin embargo, más de 100 serotipos poseen un potencial patogénico similar. A un subgrupo de serotipos de STEC (O26:H11; O103:H2; O111:NM; O121:H19; O145:NM; O157:H7), asociado a enfermedad severa en el hombre, se lo denomina *E. coli* enterohemorrágico⁴. Recientemente, Karmali y col.⁴ clasificó a las cepas STEC en cinco sero-patotipos (A-E) teniendo en cuenta su potencial patogénico y epidémico, su asociación a enfermedades severas en el hombre y su capacidad para producir brotes.

La habilidad de las cepas STEC para causar enfermedad está relacionada con su capacidad para secretar Stx1, Stx2 y sus variantes, responsables del daño del endotelio vascular. Hasta el presente están descriptos los siguientes tipos de toxinas: Stx1, Stx2, Stx2c, Stx2d, Stx2e, Stx2f, Stx2g, y Stx2h, los cuales incluyen 25 variantes de genotipos de *stx*⁵.

Otro factor de virulencia es una proteína de membrana externa de 94-kDa, llamada intimina, codificada por el gen *eae* localizado en la isla de patogenicidad LEE (del inglés, locus of enterocyte effacement). Este locus está asociado con la adherencia íntima de la bacteria a la célula epitelial, la iniciación de las señales de transducción, y la desorganización de las microvellosidades con la formación de la lesión AE (del inglés, attaching-and-effacing)⁶. La presencia de LEE le confiere a las cepas STEC una mayor virulencia, pues los serotipos LEE-positivos aparecen más comúnmente asociados a brotes y casos de SUH que los serotipos LEE-negativos. Sin embargo, la presencia de LEE no es esencial para la patogénesis, pues se han notificado casos de enfermedad humana severa, incluyendo casos esporádicos de SUH y brotes, asociados a cepas STEC LEE-negativas. Distintas proteínas han sido propuestas como nuevas adhesinas, incluyendo Iha, Efa1, LPF_{O157/O1-141}, LPF_{O157/O1-154}¹ y LPF_{O113}¹ codificadas en regiones de las islas de patogenicidad del cromosoma de *E. coli* EDL933, mientras que otras tres adhesinas -ToxB, Saa y Sfp- están codificadas en el megaplásmido de STEC⁷.

Algunas cepas STEC producen una enterohemolisina (EHEC-Hly), codificada en el gen *exhA* del megaplásmido de 90-kb, la cual estaría involucrada en la patogénesis⁸. Este plásmido también porta los factores de virulencia *espP* (serina proteasa extracelular), *katP* (catalasa-peroxidasa), *etp* (sistema de secreción tipo II).

Reservorios y vías de transmisión

Numerosos estudios realizados en diferentes países, incluyendo a la Argentina, permitieron confirmar el rol del ganado vacuno como principal reservorio de STEC, aunque las ovejas y las cabras también son descriptos como reservorios importantes^{9, 10}.

En un estudio realizado por Meichtri y col.¹¹ en la Argentina, la frecuencia de detección de STEC en terneros a nivel de playa de faena de un frigorífico para consumo interno fue del 38.5% de no-O157 y del 0.5% de O157:H7.

Recientemente, se demostró que el 50.8% de los rumiantes silvestres del Jardín Zoológico y Botánico de La Plata portaban STEC, incluyendo el aislamiento de STEC O146:H25 de un roedor autóctono, lo cual sugiere que los roedores podrían ser portadores y eventuales transmisores de este patógeno¹².

La principal vía de transmisión de STEC O157 y no-O157 son los alimentos contaminados, como por ejemplo, carne molida, productos cárnicos crudos o insuficientemente cocidos, hamburguesas, embutidos fermentados, morcilla, leche no pasteurizada, yogur, quesos, mayonesa, papas, lechuga, brotes de soja y alfalfa, jugos de manzana no pasteurizados, y agua, entre otros^{13, 14, 15}. La contaminación de los alimentos se debe principalmente al contacto con las heces del ganado bovino. En la Argentina, se detectó STEC no-O157 en el 8.4% de hamburguesas supercongeladas¹⁶ y STEC O157 en el 3.9% de productos cárnicos a nivel de boca de expendio¹⁷.

Otras formas de transmisión incluyen el contacto directo del hombre con los animales, la contaminación cruzada durante la preparación de alimentos, y la transmisión persona a persona por la ruta fecal-oral. Es importante destacar que la dosis infectiva capaz de ocasionar enfermedad por parte de este grupo bacteriano es de 10 a 100 bacterias por gramo de alimento.

La contaminación fecal del agua puede deberse a la descarga de materia fecal en aguas de recreación o en aguas de pozo que son consumidas sin previo tratamiento de purificación. En Argentina se aisló *E. coli* O157:H7 en el Río de La Plata, en áreas cercanas a las tomas de agua de los centros de purificación para el consumo humano¹⁸. En 2 brotes ocurridos en jardines maternos de Entre Ríos y Santa Fe¹⁹, los casos de SUH y diarrea sanguinolenta asociados a la infección por STEC estuvieron vinculados epidemiológicamente al uso de piletas o piletones comunitarios. En particular en estos brotes,

se hipotetizó la posibilidad de ocurrencia de “accidentes fecales” por parte de algunos niños pequeños que aún no controlaban adecuadamente los esfínteres. A pesar de que *E. coli* O157:H7 es susceptible al agua clorada, cuando el mantenimiento desinfectante de las piletas de natación es inadecuado, pueden llegar a ocurrir brotes debido a un ineficiente sistema de control de las mismas.

Se debe enfatizar que también pueden constituir riesgo de transmisión aquellos individuos que están recuperándose de un episodio diarreico, pues pueden seguir eliminando gérmenes. El personal y los niños con diarrea, que asisten a instituciones de cuidado diario, no deben reincorporarse a esos centros hasta la resolución de los síntomas, tengan o no identificado el patógeno. Además, dado que la excreción de STEC puede ser intermitente y prolongada, no debe permitirse el reingreso a dichas instituciones de todo niño o adulto con infección por STEC, sintomático o asintomático, hasta no tener dos coprocultivos negativos sucesivos con intervalos de 48 horas entre ellos²⁰.

Diagnóstico

Se utilizan tres criterios diagnósticos para establecer la asociación entre enfermedad e infección por STEC: aislamiento y caracterización del patógeno; detección de Stx libre en materia fecal (StxMF); y detección de anticuerpos anti-Stx en suero²¹. Para la identificación de las cepas STEC en materia fecal se utiliza como tamizaje la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando los oligonucleótidos o “primers” específicos para la detección de los genes *stx1*, *stx2* y *rfbO157*. La caracterización genotípica de los factores de virulencia accesorios, *eae* y *exhA* se realiza también por PCR. Los aislamientos Stx positivos son identificados por técnicas bioquímicas estándares, y serotificados usando antisueros de *E. coli* O y H. Para la caracterización fenotípica se realiza además, la detección de la enterohemolisina, producción de Stx por citotoxicidad específica en células Vero, y ensayos de sensibilidad a los antimicrobianos. La subtipificación de las cepas se complementa con la identificación de las variantes de *stx* y *eae* por análisis del polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción, fagotipificación de cepas O157, y con el estudio de la relación clonal aplicando la técnica de macrorrestricción y separación por electroforesis de campos pulsados (PFGE)²². Para la detección de StxMF se emplea la técnica de neutralización del efecto citotóxico en células Vero, empleando anticuerpos monoclonales para Stx1 y Stx2. La determinación de anticuerpos anti-Stx en los sueros de los pacientes, se

realiza por ensayos de neutralización del efecto citotóxico en células Vero y por Western Blot.

Epidemiología

En Argentina, donde el SUH es endémico, se producen aproximadamente 400 casos nuevos por año. La enfermedad constituye la primera causa de insuficiencia renal aguda en la edad pediátrica y la segunda de insuficiencia renal crónica²³. El SUH es responsable del 20% de los trasplantes renales en niños y adolescentes²⁴. En estudios realizados en la década del 90, se encontraron evidencias de infección por STEC en 59% de los casos de SUH, y *E. coli* O157 fue el serogrupo prevalente²¹. En el 2000 (Resolución N° 346/00), el Ministerio de Salud estableció la notificación obligatoria al Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SI.NA.V.E.), con modalidad semanal e individualizada en la Planilla C2. En el 2005, 22 Unidades Centinela para la vigilancia del SUH comenzaron a funcionar en las jurisdicciones con las tasas de incidencia más elevadas.

En la Fig. 1 se presenta el número de casos notificados al Servicio Fisiopatogenia del INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” y al Comité de Nefrología de la Sociedad Argentina de Pediatría, las tasas estimadas de notificación, y la mortalidad, correspondiente al período 1995-2004. La tasa de notificación para el año 2005 fue de 13.9 casos por cada 100 000 niños menores de 5 años, valor 10 veces superior al notificado por los países industrializados. Se notificaron 464 casos de los cuales el 52% correspondió al sexo femenino, y el 62% a niños menores de 2 años, con una edad promedio de 29.0 ± 26.3 meses [rango 1-180 meses]. El 55% ocurrió durante los meses cálidos. La letalidad en la fase aguda fue del 3.4%.

En el 2005, el Servicio Fisiopatogenia, como Laboratorio Nacional de Referencia, recibió muestras de 344 pacientes con diagnóstico de SUH, estableciéndose la infección por STEC en el 32.8% de los mismos, por uno o más de los tres criterios diagnósticos utilizados. Se caracterizaron 87 cepas de STEC, de las cuales 66 (75.8%) fueron serotipificadas como O157:H7 y 21 (24.1%) como STEC no-O157. Todas las cepas O157:H7 portaron los genes *stx*, *eae*, y *ehxA*, fueron del biotipo C, hemolíticas, presentaron citotoxicidad específica en células Vero, y fueron sensibles a los antimicrobianos recomendados para *E. coli*. La distribución de genotipos *stx* en las cepas STEC O157 fue la siguiente: *stx*_{2c-O157-EDL933} y *stx*_{2c-O157-E32511} (89.4%) y *stx*_{2-O157-EDL933} (10.6%), y los fagotipos (PT) más frecuentes fueron: PT49 (34.8%) y PT4 (30.3%). La frecuencia de serotipos entre las cepas no-O157 fue: O145:NM (28.5%), O145:HNT (9.5%),

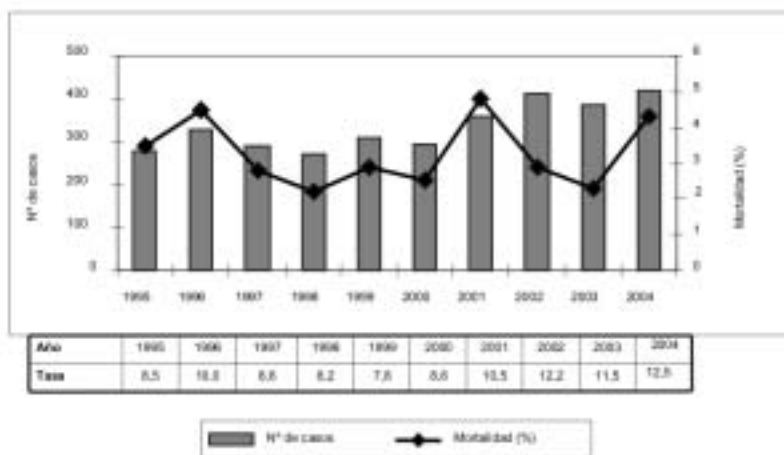


Fig. 1.— Número de casos notificados, tasas estimadas de notificación y mortalidad del Síndrome Urémico Hemolítico. Argentina, 1995-2004.

O121:H19 (9.5%), ONT:HNT (9.5%) y O20:H19, O26:H11, O91:NM, O103:HNT, O111:NM, O171:HNT, ONT:H12, ONT:H19, y ONT:NM (4.8% de cada uno). Las cepas fueron citotóxicas en células Vero, y los genotipos de *stx* fueron subtipificados como *stx*_{2-O157-EDL933} (85.7%), *stx*_{2d2-O91/b-B2F1} (4.8%), y *stx*_{1-O157-EDL933} (9.5%). El 76,2% de las cepas portaron el gen *eae*, y el 66.6% el gen *ehxA*. El 28.6% de las cepas fue resistente a por lo menos uno de los antibióticos ensayados.

Se caracterizaron 48 cepas STEC provenientes de casos con diarrea con y sin sangre, y de contactos, correspondiendo el 81.2% a O157:H7 y el 18.8% a no-O157.

Además se analizaron aislamientos de 333 muestras de diferentes orígenes: bovinos, mascotas productos cárnicos y de aguas, de las cuales el 16% fueron identificadas como STEC y el 5.9% como *E. coli* O157 no toxigénicas.

Las 66 cepas STEC O157 aisladas de casos de SUH provenientes de 12 jurisdicciones durante el año 2005, fueron subtipificadas por *Xba*I-PFGE, genotipificación de la toxina Shiga y fagotipificación. Los patrones de *Xba*I-PFGE generados fueron ingresados a la Base de Datos Nacional (BDN) que contiene 400 patrones diferentes correspondientes a 845 cepas aisladas desde 1988 hasta el 2006.

Se observaron 40 patrones *Xba*I-PFGE distintos, lo que demuestra la alta diversidad genética de las cepas circulantes. Un total de 35 cepas pudieron ser agrupadas en 9 "clusters", definido como grupo de cepas que presentan idéntico patrón de PFGE. La frecuencia de los "clusters" fue la siguiente: I (AREXHX01.0011, 11 cepas); II (AREXHX01.0022, 6 cepas); III (AREXHX01.0153, 4 cepas); IV (AREXHX01.0175, 3 cepas); V (AREXHX01.0200, 3 cepas); VI (AREXHX01.0045, 2 cepas); VII (AREXHX01.0061, 2 cepas); VIII

(AREXHX01.0038, 2 cepas); IX (AREXHX01.0095, 2 cepas). Por otra parte, el resto de las cepas (31) no pudieron ser agrupadas en "clusters" por presentar patrones únicos de *Xba*I-PFGE.

Las cepas con patrones idénticos fueron aisladas en diferentes localidades y en distintas semanas epidemiológicas, lo que demuestra que se encuentran altamente diseminadas en nuestro país. Al comparar los patrones prevalentes correspondientes a los casos de SUH del 2005, con aquellos pre-existentes en la BDN, se observó que los mismos fueron previamente asociados a enfermedad humana, alimentos y medio ambiente. Esto significaría que son cepas capaces de sobrevivir, persistir a través del tiempo en diferentes nichos y diseminarse en diferentes reservorios aumentando la probabilidad de transmisión a la población humana.

Dada la alta tasa de SUH, la carencia de un tratamiento específico, y la alta morbilidad, la prevención primaria de las infecciones por STEC es fundamental para disminuir su impacto sanitario. Para evaluar los factores de riesgo asociados a la infección por STEC en niños argentinos se realizó un estudio caso-control prospectivo en dos sitios, la provincia de Mendoza, y la Ciudad de Buenos Aires y sus alrededores, desde enero de 2001 a diciembre de 2002²⁵. Un caso fue definido como diarrea asociada a la infección por STEC O157 o no-O157, o SUH post-entérico en un niño previamente sano menor de 16 de años. Los controles fueron niños sanos pareados por edad y barrio. Se compararon las actividades, alimentos y bebidas consumidos por los casos y los controles en los 7 días anteriores al establecimiento de la diarrea.

Se incorporaron 150 casos y 299 controles. La edad promedio de los casos fue de 1,8 años y el 58% fue de sexo femenino. Entre los casos, todos tuvieron diarrea,

84% sanguinolenta, 61% fiebre, y 63% requirió hospitalización. Se aislaron 103 cepas STEC de 99 casos. La frecuencia de serotipos fue: O157:H7 (59.2%), O145:NM (12.6%), O26:H11 (5.8%), O113:H21 (3.9%), O174:H21 (2.9%), O8:H19 (1.9%), O145:H25 (1.9%), ONT:NM (1.9%), y O2:H11, O15:H27, O25:NM, O58:H40, O91:H7, O103:H2, O103:H25, O111:NM, O121:H19, y O171:H2 (0.9% cada uno). Los genes que codifican a Stx2 fueron identificados en el 90.3%, y a Stx1 en 9.7%. En el análisis multivariado, las conductas asociadas con infección incluyeron: comer carne mal cocida fuera del hogar (Odds Ratio [OR] 17.63; intervalo de confianza 95% [IC] 1.6-197.4), vivir o visitar un lugar con animales domésticos (OR 6.61; IC 95% 1.5-28.8), y contacto con un niño con diarrea menor de 5 años (OR 3.29; IC 95% 1.0-10.4). Lavarse las manos siempre con agua y jabón después de manipular carne cruda (OR 0.23; IC 95% 0.1-0.6) y comer frutas y vegetales frecuentemente (OR 0.31; IC 95% 0.1-0.6) fueron factores protectivos.

Conclusiones

Si bien en otras partes del mundo se han descrito brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) asociados a infecciones por STEC, en la Argentina la presentación es en forma de casos esporádicos o brotes difusos de difícil definición epidemiológica. La vigilancia epidemiológica se realiza en el marco de un sistema que considera al SUH como evento trazador de las ETA y a cada caso como un brote. Esto se debe a que el microorganismo es de fácil transmisión por su baja dosis infectiva, y que en muchos casos se han detectado contactos familiares o institucionales asintomáticos con infección por STEC. La vigilancia molecular es importante para identificar la fuente, disminuir la probabilidad de diseminación y así evitar nuevos casos.

La implementación de estrategias de prevención y control de impacto en Salud Pública son fundamentales para disminuir la morbi-mortalidad asociada al SUH, tal como lo enfatiza la Organización Mundial de la Salud. Por lo tanto, es necesario la incorporación de medidas de control del patógeno a lo largo de la cadena agroalimentaria para asegurar la calidad de los alimentos, y Programas de Educación para la Salud sostenidos, destinados a la comunidad en general, alertando sobre los riesgos de este patógeno, sus vías de transmisión y las estrategias de prevención que deben aplicarse.

Agradecimientos: Al Dr. Sergio Sosa-Estani, del Centro Nacional de Endemoepidemias – ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”, por su participación en el estudio caso-control de factores de riesgo en las infecciones por STEC.

Referencias

1. Griffin PM, Tauxe RV. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiol Rev* 1991; 13: 60-98.
2. Boyce TG, Swerdlow DL, Griffin PM. *Escherichia coli* O157H7 and the hemolytic uremic syndrome. *N Engl J Med* 1995; 333: 364-8.
3. Banatvala N, Griffin PM, Greene KD, et al. The United States national prospective hemolytic uremic syndrome study: microbiologic, serologic, clinical, and epidemiologic findings. *J Infect Dis* 2001; 183: 1063-70.
4. Karmali MA, Mascarenhas M, Shen S, et al. Association of genomic O island 122 of *Escherichia coli* EDL 933 with verocytotoxin-producing *Escherichia coli* seropathotypes that are linked to epidemic and/or serious disease. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 4930-40.
5. Scheutz F, Strockbine NA. *Escherichia*. In Garrity GM, Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT (eds). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer, 2005, p 607-24.
6. McDaniel TK, Kaper JB. A cloned pathogenicity island from enteropathogenic *Escherichia coli* confers the attaching and effacing phenotype on *E. coli* K12. *Mol Microbiol* 1997; 2: 399-407.
7. Toma C, Martínez Espinosa E, Song T, et al. Distribution of putative adhesins in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* of different seropathotypes. *J Clin Microbiol* 2004; 42 (11): 4937-46.
8. Schmidt H, Beutin L, Karch H. Molecular analysis of the plasmid-encoded hemolysin of *Escherichia coli* O157:H7 strain EDL 933. *Infect Immun* 1995; 63:1055-61.
9. Parma AE, Sanz ME, Blanco JE, et al. Virulence genotypes and serotypes of verotoxigenic *Escherichia coli* from cattle and foods in Argentina. *Eur J Epidemiol* 2000; 16: 757-62.
10. Caprioli A, Morabito S, Brugere H, Oswald E. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet Res* 2005; 36: 289-311.
11. Meichtri L, Miliwebsky E, Gioffré A, et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in healthy young beef steers from Argentina: prevalence and virulence properties. *Int J Food Microbiol* 2004; 96: 189-98.
12. Leotta GA, Deza N, Origlia J, et al. Detection and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in captive wild mammals. *Rev Vet Microbiology*. Artículo en prensa. Doi:10.1016/J.VETMIC. 2006.07.006
13. World Health Organization. Consultation on prevention and control of enterohemorrhagic (EHEC) infections. In: World Health Organization. Proceedings of the Report of a WHO. Consultation, Geneva, Switzerland. 1997.
14. Rivas M, Caletti MG, Chinen I, et al. Home-prepared hamburger and sporadic hemolytic uremic syndrome, Argentina. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 1184-6.
15. Oteiza JM, Chinen I, Miliwebsky E, Rivas M. Isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from precooked sausages (morcillas). *Food Microbiology* 2006; 23: 283-8.
16. Gómez D, Miliwebsky E, Fernandez Pascua C, et al. Aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga en hamburguesas supercongeladas y quesos de pasta blanda. *Rev Arg Microbiol* 2002; 34: 66-71.

17. Chinen I, Tanaro JD, Miliwebsky E, et al. Isolation and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from retails meats in Argentina. *J Food Protect* 2001; 64: 1346-51.
18. López F, Isequilla PE, Kaplan D. Enfermedades de transmisión hídrica en el Río de La Plata, Diagnóstico de situación Enero-Junio 1998. Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires. 1998.
19. Miliwebsky E, Deza N, Chinen I, et al. Prolonged fecal shedding of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* among children attended in day-care centers, Argentina. Enviado para su publicación en *Rev Arg Microbiol* 2006.
20. Gómez D, Miliwebsky E, Silva A, et al. Aislamiento de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga durante un brote de gastroenteritis en un Jardín Maternal de la Ciudad de Mar del Plata. *Rev Arg Microbiol* 2005; 37: 176-83.
21. Miliwebsky ES, Balbi L, Gómez D, et al. Síndrome urémico hemolítico en niños de Argentina: su asociación con la infección por *Escherichia coli* productor de toxina Shiga. *Bioquímica y Patología Clínica* 1999; 63: 113-21.
22. Rivas M, Miliwebsky E, Chinen I, et al. Characterization and epidemiologic subtyping of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from hemolytic uremic syndrome and diarrhea cases in Argentina. *Foodborne Pathogens and Disease* 2006; 3: 88-96.
23. Spizzirri FD, Rahman RC, Bibiloni N, Ruscasso JD, Amoreo OR. Childhood hemolytic uremic syndrome in Argentina: long term follow-up and prognostic features. *Pediatr Nephrol* 1997; 11: 156-60.
24. Exeni R. Síndrome Urémico Hemolítico. *Archivos Latinoamericanos de Nefrología Pediátrica* 2001; 1: 35-56.
25. Rivas M, Sosa-Estani S, Rangel J, et al. Risk factors associated with Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections, Argentina. A Case-Control Study. 5th International Symposium and Workshop on Shiga toxin (Verocytotoxin) – Producing *Escherichia coli* Infections 2003, Edinburgh, Great Britain, Abstract 0-5, p.19.