

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
PEDIATRIE



**CARACTERISTICILE SINDROMULUI HEMOLITIC
UREMIC LA COPIL**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. BĂLGRĂDEAN MIHAELA

Doctorand:

COSTIN MARIANA

2020

Cuprins

Articole publicate.....	7
Lista de abrevieri.....	8
Introducere.....	9
I. Partea generală: Stadiul actual al cunoașterii.....	10
1. Istoric.....	10
1.1 Introducere.....	10
1.2 Purpura Trombotică Trombocitopenică.....	12
1.3 Sindromul Hemolitic Uremic.....	14
1.4 Microangiopatiile Trombotice.....	15
1.5 Sindromul hemolitic uremic produs de shigatoxina (Stx-SHU).....	16
2. Tabloul anatomopatologic din SHU.....	17
2.1 Generalități.....	17
2.2 Factori de variație a leziunilor anatomopatologice.....	18
2.3 Leziunile anatomopatologice întâlnite la copiii sub 2 ani.....	19
2.4 Leziunile anatomopatologice întâlnite la pacienții cu vârsta de peste 2 ani.....	20
3. Mecanismele Fiziopatologice implicate în SHU.....	22
3.1 Modificările anatomopatologice din microangiopatiile trombotice.....	22
3.2 Rolul central al leziunilor endoteliale.....	23
3.3 Toxine implicate în SHU.....	24
3.4 Terminologie.....	25
3.5 Infecția cu STPB (Shigatoxin producing bacteria).....	26
3.6 Mecanismele patogenice de producere a Stx-SHU.....	27
3.7 Tipuri de Shigatoxine.....	28
3.8 Transportul Shigatoxinelor în celule.....	29
3.9 Acțiunea Shigatoxinelor la nivel celular.....	30
3.10 Endotoxinele.....	32
3.11 Neuraminidaza.....	33
3.12 Reacții imune.....	34

3.13	Medicamente.....	35
3.14	Alterarea endoteliului vascular.....	38
3.15	Activarea trombocitelor.....	38
3.16	ADAMTS13.....	39
3.17	Activarea necontrolată a complementului.....	41
3.17.1	Deficiențe ale HF1.....	41
3.17.2	Deficiențe ale MCP (membrane cofactor protein).....	42
3.18	Scăderea nivelului prostacilinei.....	43
3.19	Stresul de forfecare (stresul parietal).....	43
3.20	Stresul oxidativ.....	44
4.	Tabloul clinic în SHU si evoluția infecțiilor cu STEC și a Stx-SHU.....	45
4.1	Infecțiile cu STEC.....	45
4.2	Riscurile de apariție a SHU.....	46
4.3	Manifestările clinice ale infecțiilor cu STEC.....	47
4.4	Markeri clinici și biologici ai severității infecției cu STEC.....	47
4.5	Manifestările clinice din Stx-SHU.....	48
4.6	Modificările hematologice din SHU.....	50
4.7	Afectarea renală din SHU.....	51
4.8	Manifestările extrarenale în SHU.....	52
5.	Clasificarea Microangiopatiilor Trombotice (TMA).....	55
5.1	Elemente de clasificare.....	55
5.2	Clasificarea clinică a TMA.....	55
5.3	Clasificarea bazată pe Mecanismele Fiziopatologice.....	62
6.	Formele de SHU – caracteristici, epidemiologie, manifestări clinice, tratament, evoluție.....	65
6.1.	Stx-SHU.....	65
6.1.1	Epidemiologia și caracteristicile clinice.....	65
6.1.2.	Prognostic.....	69
6.1.3	Tratamentul în Stx-SHU.....	70
6.2	SHU asociat cu neuraminidaza.....	75
6.3	SHU asociat cu deficiențe genetice ale Factorului H1 (HF1).....	76
6.4	SHU asociat cu deficiențe autoimune ale Factorului H1 (HF1).....	79
6.5	SHU asociat cu deficiențe ale MCP (Membrane Cofactor Protein)....	80

6.6 SHU Postpartum.....	81
6.7 SHU Posttransplant.....	82
6.7.1 SHU posttransplant “de novo”.....	83
6.7.2 SHU posttransplant recurent.....	86
6.8 SHU asociat cu cancerul.....	88
6.9 SHU asociat cu Boli Sistemice, Infecția HIV.....	89
6.10 SHU idiopatic.....	91
II. Partea specială: Contribuția personală.....	92
7. Ipoteza de lucru și obiectivele generale.....	92
8. Analiza cazurilor de Sindrom Hemolitic Uremic și datele statistice.....	95
8.1 Generalități.....	95
8.2 Datele demografice ale pacienților.....	96
8.2.1 Sexul pacienților.....	96
8.2.2 Vârsta pacienților.....	97
8.2.3 Distribuția geografică.....	99
8.3 Date statistice privind agentul patogen cauzal.....	101
8.4 Date statistice privind perioadele de timp cu semnificație clinică.....	103
8.4.1 Perioada de internare.....	103
8.4.2 Perioada de la debutul prodromului până la diagnosticul de Sindrom Hemolitic Uremic.....	105
8.5 Date statistice privind tratamentul.....	106
8.5.1 Tratamentul cu antibiotice anterior internării în Clinica de Nefrologie.....	106
8.5.2 Tratamentul cu antibiotice în cursul spitalizării în Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii "Maria Sklodowska Curie" București.....	107
8.5.2.1 Tipuri de antibiotice folosite.....	108
8.5.3 Tratamentul cu antifungice în cursul spitalizării în Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii "Maria Sklodowska Curie" București.....	110
8.5.4 Perioada de timp pentru care a fost necesară dializa.....	111
8.5.5 Tratamentul cu derivate de sânge.....	113

8.6 Date statistice privind complicațiile	117
8.6.1 Complicațiile apărute la pacienții cuprinși în studiu.....	117
8.6.2 Complicații cardiovasculare.....	118
8.6.3 Complicații infecțioase.....	121
8.6.4 Complicații neurologice.....	123
8.6.5 Complicații pulmonare.....	125
8.6.6 Complicații renale	126
9. Concluzii.....	128
9.1 Sexul pacienților.....	128
9.2 Vârsta pacienților.....	129
9.3 Distribuția geografică.....	131
9.4 Identificarea agentului patogen.....	133
9.5 Perioada de spitalizare.....	135
9.6 Perioada de la debutul prodromului până la diagnosticul de Sindrom Hemolitic Uremic.....	136
9.7 Tratamentul cu antibiotice anterior internării în Clinica de Nefrologie.....	138
9.8 Tratamentul cu antibiotice în cursul internării în Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii "Maria Sklodowska Curie" București.....	139
9.9 Tratamentul cu antifungice în cursul internării în Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii "Maria Sklodowska Curie" București.....	140
9.10 Perioada de timp pentru care a fost necesară dializa.....	141
9.11 Tratamentul cu derivate de sânge al pacienților cu SHU.....	145
9.12 Complicațiile apărute în cursul Sindromului Hemolitic Uremic.....	147
10. Protocolul terapeutic elaborat pentru Sindromul Hemolitic Uremic determinat de Shigatoxină.....	149
10.1 Introducere.....	149
10.2 Primele măsuri la prezentarea pacientului în UPU.....	150
10.3 Primele măsuri la internarea în Secția de Nefrologie.....	151
10.4 Tratamentul inițial al pacientului în Secția de Nefrologie.....	153
10.5 Tratamentul modificărilor hematologice.....	158
10.6 Inițierea procedurilor de substituție renală.....	160
10.7 Managementul complicațiilor.....	163

10.8 Tratamentul în alte forme de Sindrom Hemolitic Uremic	169
10.9 Perspective terapeutice.....	170
Bibliografie.....	171

Introducere

Sindromul hemolitic–uremic este o afecțiune rară, cu o incidență anuală de circa 0.2-1 caz/100000 de locuitori, întâlnită mai frecvent la copiii cu vârsta sub 5 ani (incidență de 5-6 cazuri/100000). Mortalitatea pe plan mondial se menține la un nivel de 5-15%.

Sindromul hemolitic-uremic reprezintă cea mai frecventă cauză de insuficiență renală acută la sugar și copilul mic (1) și este caracterizat prin triada:

- injurie renală / insuficiență renală acută
- trombocitopenie
- anemie hemolitică microangiopatică.

Grupa maladiilor clasificate drept Microangiopatii Trombotice cuprinde afecțiunile în care sunt prezente modificări patologice ale arteriolelor și capilarelor din diferite organe (îngroșarea peretelui vascular, cu umflarea celulelor endoteliale, care uneori se desprind de membrana bazală și acumularea de material amorf în spațiul subendotelial), cu obstrucția parțială sau completă a lumenului vaselor afectate, în care apare anemie hemolitică microangiopatică asociată cu trombocitopenie, ca urmare a distrugerii hematiilor și trombocitelor în aceste vase.

Principalele reprezentante din clasa microangiopatiilor trombotice sunt sindromul hemolitic uremic și purpura trombotică trombocitopenică, dar există și un spectru larg de alte afecțiuni sau stări clinice: afecțiuni maligne, reacții toxice după expunerea la anumite medicamente, infecții sistemice, glomerulopatii, nefropatii post-iradiere, status posttransplant, complicații în sarcină sau postpartum, hipertensiunea malignă, sindromul HELLP, lupus eritematos sistemic, sindromul antifosfolipidic, sclerodermia, în care pot să apară manifestări similare - microangiopatie cu tromboză, anemie hemolitică microangiopatică și trombocitopenie - și care completează această clasă patologică.

Se consideră ca sindromul hemolitic-uremic este caracterizat de prezența unor injurii renale importante, iar purpura trombotică trombocitopenică este caracterizată de predominanța manifestărilor neurologice.

Această distincție este relativă, deoarece există adesea suprapuneri care fac dificilă diferențierea celor două entități patologice. Există cazuri de sindroame hemolitice uremice în

care apar manifestări neurologice și cazuri de purpura trombotică trombocitopenică în care apare insuficiența renală acută (2,3).

La ora actuală, spre deosebire de purpura trombotică trombocitopenică, în care prezența anemiei hemolitice microangiopatice în asociere cu trombocitopenia, justifică începerea plasmaferezei, în absența altei etiologii dovedite, pentru stabilirea diagnosticului de sindrom hemolitic uremic este necesar să fie îndeplinite trei condiții (triada diagnostică):

- existența anemiei hemolitice microangiopatice
- existența trombocitopeniei
- prezența injuriei renale cu afectarea funcției renale / prezența insuficienței renale

în condițiile în care nu există un diagnostic de purpură trombotică trombocitopenică (4).

Diagnosticul de sindrom hemolitic uremic a fost asociat cel mai frecvent cu un episod de diaree infecțioasă. Principalul germen responsabil este *Escherichia coli* enterohemoragică, producătoare de Shigatoxina (toxina "Shiga-like"), în principal serotipul O157:H7 (dar s-a demonstrat că și alte serotipuri pot determina apariția sindromului hemolitic-uremic).

2. Tabloul anatomopatologic din SHU

Leziunile anatomopatologice tipice întâlnite în SHU sunt reprezentate de:

- tumefacția pereților capilarelor prin acumularea de material amorf, fibrinoid în spațiul subendotelial (5,6,7)
- prezența trombilor de fibrină în arteriole și capilare.

Aceste modificări vasculare afectează circulația arteriolară și capilară, determinând ocluzii arteriolare și capilare, totale sau parțiale.

Ocluziile vasculare conduc la rândul lor la apariția procesului de hemoliză microangiopatică.

În vasele sanguine ale organelor afectate se pun în evidență celule sanguine aflate în diferite stadii de hemoliză, precum și fragmente celulare.

Aceste caracteristici histopatologice definesc apartenența SHU la grupul Microangiopatiilor Trombotice.

La nivelul glomerulilor renali, pe lângă modificările pereților capilari descrise anterior, au fost puse în evidență și modificări mezangiale – o lărgire a spațiului mezangial, care capătă un aspect fibrilar. (8, 9)

O caracteristică importantă este reprezentată de faptul că leziunile vasculare glomerulare sunt distribuite neuniform la nivel renal, iar numărul de glomeruli afectați (procentul) are importanță prognostică în privința evoluției bolii.(6, 10)

Există o variabilitate a leziunilor anatomopatologice predominante, în funcție de vârsta pacienților:

- în cazul copiilor cu vârsta mai mică de 2 ani sunt mai frecvent întâlnite leziuni pure de tromboză microangiopatică
- în cazul copiilor mai mari și al adulților, modificările histologice sunt mai complexe – leziuni arteriale cu necroza și tromboza la nivelul arterelor interlobulare și modificări histologice ischemice glomerulare

3. Mecanismele Fiziopatologice implicate în SHU

Există peste 200 de serotipuri de *Escherichia coli* care produc Stx, dar nu toate aceste serotipuri sunt patogene pentru om (11).

- STEC (Shigatoxigenic serotypes of *Escherichia coli*) – definește tulpinile de *Escherichia coli* care conțin fagi ce codifică shigatoxina și produc “in vivo” shigatoxină
- EHEC (Enterohemorrhagic *Escherichia coli*) sunt tulpini de *Escherichia coli* care produc colita hemoragică la om (12)
- STPB (Shigatoxin Producing Bacteria) cuprinde mai multe tipuri de bacterii:
 - o STEC
 - o *Shigella Dysenteriae* tip 1
 - o tulpinile de *Citrobacter freundii* (13,14,15,16) , *Salmonella* și alte tulpini de *Shigella* care sunt capabile să producă shigatoxină (17)

Escherichia coli O157:H7 este cea mai cunoscută dintre bacteriile producătoare de shigatoxina (STPB) și este responsabilă de majoritatea cazurilor de SHU sporadic precum și de majoritatea cazurilor epidemice. Infectarea se produce prin consumul de lapte, carne sau apă contaminată cu fecale sau prin contactul direct cu animale sau alți oameni infectați. Contaminarea cu *E. coli* și *S. dysenteriae* este urmată de fixarea acestora la nivelul mucoasei colice.

Principalul mecanism patologic prin care acționează este producerea shigatoxinei.

STEC nu este o bacterie cu proprietăți invazive la nivel celular și nu determină în general bacteriemie. Leziunile endoteliale care apar sunt rezultatul acțiunii shigatoxinei.

După aderența bacteriană la epiteliul intestinal, se produce eliberarea shigatoxinei, care prin transcitoză, ajunge la nivelul mucoasei intestinale, determinând injurii microvasculare (tromboză, hemoragii, necroze) (1).

Leziunile vasculare la nivelul mucoasei, manifestate prin diaree sanguinolentă, sunt produse doar de serotipurile producătoare de shigatoxină (18).

Shigatoxina este transportată de la nivelul celulelor epiteliale intestinale în circulație prin căi transcelulare, acțiunea implicând și intervenția celulelor polimorfonucleare (PMN), care măresc permeabilitatea paracelulară (19,20).

Deși s-a demonstrat, *in vitro*, că Shigatoxina se poate lega de eritrocite, trombocite și monocite, studiile recente sugerează că un rol major în transportul sanguin al shigatoxinei îl au celulele polimorfonucleare (21).

Studiile efectuate “*in vitro*” au demonstrat legarea completă a shigatoxinei de celulele polimorfonucleare, iar cele “*in vivo*” au demonstrat prezența complexelor polimorfonucleare-shigatoxină în sângele circulant al pacienților cu SHU (22).

La nivelul celulelor endoteliale glomerulare, Stx este cedată de polimorfonucleare și fixată de receptori endoteliali glomerulari. Acest fenomen este determinat de faptul că afinitatea receptorilor glomerulari pentru Stx este de circa 100 de ori mai mare decât a receptorilor de la nivelul polimorfonuclearelor, determinând trecerea Stx la nivelul celulelor endoteliale glomerulare.

Studiile efectuate “*in vitro*” au demonstrat de asemenea acest transfer total al Stx către celulele endoteliale glomerulare, eliberând complet polimorfonuclearele (21).

Stx acționează la nivel celular prin:

- modificarea caracteristicilor fenomenelor de adeziune celulară
- modificarea metabolismului intracelular

ceea ce conduce la stimularea fenomenelor inflamatorii locale mediate de leucocite, precum și la scăderea rezistenței endoteliului la adeziunea și activarea trombocitelor. Activarea agregării trombocitare duce în final la apariția trombozei microvasculare.

4. Tabloul clinic în SHU și evoluția infecțiilor cu STEC și a Stx-SHU

Cea mai simplă și cea mai utilizată clasificare pentru STEC este:

- STEC, serotipul O157
- STEC, serotipuri non-O157

Larga răspândire a acestei clasificări se datorează faptului că:

- serotipul O157 a fost primul serotip STEC descoperit
- este serotipul cel mai ușor de identificat în laborator prin chiturile actuale disponibile

- a fost considerat cel mai răspândit și virulent serotip de STEC

Studiile au demonstrat ca există și alte serotipuri cu prevalență asemănătoare: serotipurile O26, O103, O118, O121, O145 și O111, ultimul cu prevalență mare în SUA (23).

Susceptibilitatea oamenilor la infecția cu STEC este diferită. Dintre cei care sunt expuși, doar 38-61% dezvoltă sindromul diareic cu pierdere de sânge în scaun (colita hemoragică). Sunt suficiente 10 bacterii pentru a produce infecția. (24)

De asemenea infecția cu STEC se manifestă diferit: de la un sindrom diareic ușor până la colita hemoragică, SHU sau deces.

Stx-SHU apare după circa 6 zile (3-10 zile) de la debutul sindromului diareic. (25,26)

Pacientul prezintă:

- fatigabilitate
- paloare
- apatie
- pot să apară peteșii
- uneori se constată absența zgomotelor intestinale – poate fi semn de invaginație intestinală și ileus

Diagnosticul clinic al SHU este stabilit prin prezența triadei clasice:

- anemie hemolitică
- trombocitopenie
- afectare renală acută, adesea cu insuficiență renală

Anemia hemolitică din cadrul SHU este caracterizată prin fragmentarea hematiilor cu apariția de schistocite (hematii în formă de “seceră” sau “cască”) și este cunoscută ca Anemie Hemolitică Microangiopatică.

După 1-2 zile de evoluție a bolii pacienții prezintă:

- creșterea nivelului seric al creatininei
- oligo-anurie
- hipertensiune arterială
- edeme.

Unii pacienți pot să se vindece fără a dezvolta întregul tablou clinic al SHU – pot prezenta doar anemie hemolitică fără o aparentă afectare renală și cu un nivel al trombocitelor

la limita inferioară a normalului sau puțin sub aceasta limită. Aceste forme au fost denumite de anumiți autori: “SHU incomplet”. (27, 28)

Este important întotdeauna să se stabilească etiologia SHU, deoarece tratamentul, dar mai ales evoluția bolii, variază în funcție de tipul de SHU. Adesea tabloul clinic se poate suprapune în cazul tipurilor diferite de SHU:

- o treime din pacienții cu SHU atipic au prezentat diaree sau chiar colită hemoragică (29,30,31)

- uneori un sindrom diareic bacterian (uneori chiar STEC) sau viral poate declanșa SHU la pacienți cu mutații genetice. În astfel de cazuri SHU trebuie tratat conform indicațiilor pentru pacienții cu deficiențe genetice (SHU non-Stx) (32).

Leziunile renale din cursul SHU se manifestă clinic prin:

- hematurie microscopică sau macroscopică
- proteinurie
- oligoanurie în cazul insuficienței renale severe, care impune efectuarea dializei în aproximativ 50% din cazurile de Stx-SHU (33, 34, 35)
- hipertensiune arterială

Hipertensiunea arterială nu are legătură cu depleția volemică, ci cu leziunile renale și implicarea sistemului renină-angiotensină.

Manifestările extrarenale apar relativ rar în SHU, dar atunci când sunt prezente reflectă o evoluție gravă și un prognostic sever. Manifestările sunt extrem de variate, leziunile determinate de Stx putând afecta orice organ din corpul uman: afectare cardiaca, pulmonara, pancreatica, hepatica, afectarea sistemului nervos central, afectare musculara.

5. Clasificarea Microangiopatiilor Trombotice (TMA)

Există numeroase sisteme de clasificare a Microangiopatiilor Trombotice (TMA), datorită dificultăților întâlnite în sistematizarea acestui grup de maladii extrem de heterogen

Clasificarea clinica este cea mai frecventa:

1. Sindrom Hemolitic-Uremic Tipic
2. Sindrom Hemolitic-Uremic Atipic
 - a. familial
 - b. sporadic (idiopatic)

- c. asociat cu *Streptococcus Pneumoniae*
- d. asociat cu tulburări de metabolism ale cobalaminei C
- e. forme secundare
 - forme infecțioase
 - asociate cu boli autoimune
 - legate de medicamente
 - apărute în sarcină/postpartum
 - legate de sindromul HELLP
 - alte forme

3. Purpura Trombotica Trombocitopenică

- a. idiopatică
- b. forme secundare
 - infecțioase
 - asociate cu boli autoimune
 - legate de medicamente
 - apărute în sarcină/postpartum
 - legate de sindromul HELLP
 - altele

4. Alte Microangiopatii Trombotice

- a. în glomerulopatii
- b. în hipertensiunea malignă
- c. în boli neoplazice
- d. legate de transplant
- e. sclerodermie cu afectare renală
- f. în nefropatiile postiradiere
- g. după HSCT (Haematopoietic Stem Cell Transplantation)

6. Formele de SHU – caracteristici, epidemiologie, manifestări clinice, tratament, evoluție

În acest capitol, am discutat despre formele de SHU și caracteristicile acestora, incluzând Stx-SHU, SHU asociat cu neuraminidaza, SHU asociat cu deficiențe genetice ale Factorului H1 (HF1), SHU asociat cu deficiențe autoimune ale Factorului H1 (HF1), SHU asociat cu

deficiențe ale MCP (Membrane Cofactor Protein), SHU Postpartum, SHU Posttransplant, SHU asociat cu cancerul, SHU asociat cu Boli Sistemice, Infecția HIV, SHU idiopatic.

7. Ipoteza de lucru și obiective generale

Sindromul Hemolitic Uremic este o afecțiune severă și complexă, care necesită o abordare complexă, care nu poate fi realizată individual, ci implică o muncă în echipă, o echipă interdisciplinară în care sunt implicați medici pediatri nefrologi, medici chirurgi pediatri, medici de terapie intensivă, medici de laborator, medici de imagistică și nu în ultimul rând medici specialiști de boli infecțioase.

În cursul anului 2016, în România a existat o explozie a cazurilor de Sindrom Hemolitic Uremic - forma tipică, înregistrându-se cel mai mare număr de copii diagnosticați cu această patologie.

Prezenta lucrare are ca obiective principale:

1. să analizeze cazurile de Sindrom Hemolitic Uremic determinat de Shigatoxină, tratate în cadrul Secției de Nefrologie a Spitalului Clinic de Urgență pentru Copii "Maria Sklodowska Curie" București, în decursul unei perioade de 4 ani (ianuarie 2016 - decembrie 2019) și să urmărească aspectele importante privind datele demografice, agentul patogen, perioadele de timp cu semnificație clinică, tratamentul și complicațiile apărute în cursul evoluției bolii și să compare aceste date cu cele din studiile internaționale
2. să sistematizeze și să definească un protocol de tratament în cazul Sindromului Hemolitic Uremic determinat de Shigatoxină, la pacienții de vârstă pediatrică (ținând cont de tendințele actuale pe plan mondial)

8. Material și metodă

În studiul de față am urmărit pacienții de vârstă pediatrică, internați cu diagnosticul de Sindrom Hemolitic Uremic (forma tipică) în Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii "Maria Sklodowska Curie" București, în decursul unei perioade de 4 ani (ianuarie 2016 - decembrie 2019).

Studiul pe care l-am efectuat s-a bazat pe experiența personală în cazul pacienților aflați sub îngrijirea mea, precum și pe datele cuprinse în foile de observație ale celorlalți pacienți, urmărind:

- datele personale ale pacienților
- antecedentele patologice și heredocolaterale
- examenele clinice ale pacienților
- examenele de laborator ale pacienților
- examenele imagistice
- diagnosticele stabilite pentru fiecare pacient
- evoluția sub tratament
- complicații apărute.

Lotul de studiu a cuprins un număr de 53 de pacienți la care a fost stabilit diagnosticul de Sindrom Hemolitic Uremic, internați în secția de Nefrologie Pediatrică a Spitalului Clinic de Urgență pentru Copii "Maria Sklodowska Curie" București în perioada ianuarie 2016 - decembrie 2019.

9. Rezultate

În perioada ianuarie 2016 - decembrie 2019, în Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii "Maria Sklodowska Curie" București, în secția de Nefrologie Pediatrică au fost internați 53 de pacienți la care a fost stabilit diagnosticul de Sindrom Hemolitic Uremic.

În lotul de studiu, distribuția în funcție de sex a pacienților a fost următoarea: 26 de pacienți de sex masculin și 27 de pacienți de sex feminin.

Vârsta pacienților cuprinși în acest studiu a variat între 4 luni și 4 ani. Cel mai mare grup de pacienți a fost cel din grupa de vârstă „1 an – 1 an și 6 luni” – 16 pacienți, urmat îndeaproape de cel din grupa „6 luni - 1 an” – 14 pacienți. Grupele de vârstă extreme, din cadrul pacienților incluși în studiu, au avut cei mai puțini pacienți: sub 6 luni – 1 pacient, iar peste 4 ani – 2 pacienți.

În ceea ce privește distribuția geografică a cazurilor de Sindrom Hemolitic Uremic, 12 pacienți au provenit din mediul **rural**, în timp ce din mediul **urban** au provenit cei mai mulți - 41 de pacienți, iar ca localizare geografică, în marea majoritate au fost din sudul și sud-estul României.



Analizând cazurile pacienților din studiu, am constatat că pentru acești pacienți agentul cauzal a putut fi identificat doar în 22 de cazuri (precizăm ca toate aceste cazuri sunt cazuri de Sindrom Hemolitic Uremic determinat de Shigatoxină). Dintre acestea, în 21 de cazuri agentul cauzal a fost *Escherichia coli*, serotipurile identificate fiind O26 – 4 cazuri, O157, O126, O128, O121 – câte un caz, în 2 cazuri au fost identificate ambele serotipuri O26 și O157, în timp ce în 11 cazuri nu a fost identificat serotipul. Într-un singur caz agentul cauzal identificat a fost *Salmonella*.

Analizând rezultatul testelor efectuate pentru identificarea tipului de shigatoxină (Stx), s-a constatat că Stx 1 a fost prezentă într-un caz, Stx 2 a fost prezentă în 3 cazuri, Stx1 și Stx2 au fost prezente în 7 cazuri, iar în 10 cazuri nu s-a putut preciza tipul de shigatoxină.

Perioada de internare a pacienților din studiu a variat între 5 și 72 de zile, perioada medie fiind de 19,6 zile.

Privind tratamentul, am constatat că 21 dintre pacienți au fost tratați cu antibiotice înainte de stabilirea diagnosticului de Sindrom Hemolitic Uremic, fie ca automedicație, fie la indicația medicului de familie, fie ca parte a tratamentului efectuat în alt spital.

Pe parcursul spitalizării în clinica noastră, dintre cei 53 de pacienți cu SHU, 47 au primit tratament cu antibiotice, iar 6 dintre pacienți nu au primit nici un antibiotic.

De asemenea, am constatat că 14 pacienți au fost supuși unui tratament cu antifungice, dintre acestea fiind utilizate: Fluconazol – administrare intravenoasă – 9 pacienți, Caspofungină – administrare intravenoasă – 1 pacient, Triamcinolon/Neomicină/Nistatină (Nidoflor – aplicații cutanate) – 4 pacienți.

În ceea ce privește tratamentul de substituție renală, 39 dintre pacienți au avut nevoie de dializă, pe o durată ce a variat între 2 și 25 de zile, numărul **mediu** de zile de dializă a fost de 11,71 zile.

În lotul de studiu, am constatat că 40 de pacienți au primit transfuzii cu masă eritrocitară pe parcursul internării, iar 13 pacienți nu au avut nevoie de transfuzii cu masă eritrocitară. Calculând necesarul de unități de masă eritrocitară care a fost administrată pacienților care au avut nevoie de acest tratament, am obținut o medie de 2,67 unități de masă eritrocitară / pacient cu SHU. De asemenea, dintre cei 53 de pacienți, 7 pacienți au primit transfuzii cu masă trombocitară, fiecare primind câte o unitate de masă trombocitară, iar 2 pacienți au primit plasmă proaspătă congelată.

Am analizat complicațiile apărute în evoluția cazurilor de SHU, complicațiile constatate fiind: cardiovasculare – 26 de pacienți, infecțioase – 22 de pacienți, neurologice – 11 pacienți, pulmonare – 4 pacienți.

Pacienții cu complicații cardiovasculare au prezentat următoarele patologii: Hipertensiune arterială (HTA) – 23 de pacienți, Hipertrofie ventriculară stângă (HVS) – 8 pacienți, Edem pulmonar – 2 pacienți, Tromboză la nivelul venei femurale – 1 pacient, Disfuncție sistolică – 1 pacient, Pericardită – 1 pacient.

În ceea ce privește complicațiile infecțioase, acestea au apărut la 22 de pacienți și au cuprins: infecții urinare – 11 cazuri, peritonită prin suprainfectarea cateterului de dializă – 9 cazuri, pneumonie – 3 cazuri, infecție traheobronșică cu *Pseudomonas aeruginosa* – 1 caz, sepsis – 7 cazuri, colecistită acută – 1 caz, enterocolită – 4 cazuri.

Dintre cei 53 de pacienți cu Sindrom Hemolitic Uremic, au prezentat complicații neurologice 11 pacienți: agitație/iritabilitate/somnolență/hiporeactivitate – 3 cazuri, convulsii tonico-clonice – 4 cazuri, hipertonie generalizată – 2 cazuri, strabism convergent nou apărut – 1 caz, paralizie de nerv cranian VI – 1 caz.

Complicațiile pulmonare întâlnite au fost: pleurezie – 3 cazuri și bronhospasm sever cu stop respirator – 1 caz (resuscitat cu succes).

În afara complicațiilor prezentate anterior, există o serie de manifestări renale care sunt determinate de SHU și pot fi încadrate ca și complicații: glomerulopatie secundară, manifestată prin hematurie și proteinurie – 47 de cazuri și sindrom nefrotic – 1 caz.

10. Concluzii și contribuții personale

Datele obținute din analiza complexă a cazurilor de Sindrom Hemolitic Uremic tratate în Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii "Maria Skłodowska Curie" București, în decursul unei perioade de 4 ani (ianuarie 2016 - decembrie 2019) și prelucrarea statistică a acestora ne-au permis să tragem anumite concluzii și să putem compara aceste date cu cele comunicate în urma studiilor efectuate în întreaga lume.

10.1. Sexul pacienților

Rezultatele studiului sugerează că, în cazul pacienților tratați în Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii "Maria Skłodowska Curie" București, nu a existat o susceptibilitate legată de sexul pacienților, în dezvoltarea Sindromului Hemolitic Uremic, forma tipică.

10.2. Vârsta pacienților

Se poate afirma că în marea majoritate a cazurilor, în perioada cuprinsă în studiu, Sindromul Hemolitic Uremic a fost diagnosticat la copii cu vârsta cuprinsă între 6 luni și 4 ani. Comparând aceste concluzii cu cele din literatura, se constată că există o concordanță în ceea ce privește incidența maximă a cazurilor de SHU-Stx la copiii sub 5 ani, dar în studiul pe care l-am efectuat se poate defini un interval mai îngust de vârstă în care se încadrează majoritatea cazurilor de SHU-Stx (94.33 % dintre cazuri):

- **6 luni - 4 ani**

O astfel de concluzie poate contribui la îmbunătățirea algoritmului de diagnostic al Sindromului Hemolitic Uremic, stând la baza unei recomandări de:

creștere a suspiciunii diagnosticului de Sindrom Hemolitic Uremic în cazul unui pacient cu vârsta cuprinsă între 6 luni și 4 ani, impunând ca o prioritate confirmarea/infirmarea acestui diagnostic.

- evoluția la grupele extreme de vârstă – sub 6 luni și peste 4 ani – a fost una de mai lungă durată, asociind multiple complicații. Aceasta constatare susține afirmația că:

vârsta poate constitui un factor important de prognostic al gravității evoluției bolii.

10.3. Distribuția geografică

Din prelucrarea datelor pacienților incluși în studiu, 22.64 % din totalul pacienților au provenit din mediul rural, iar 77,36 % din mediul urban. Ar fi fost de așteptat că numărul de pacienți să fie mai mic în mediul urban, având în vedere condițiile teoretic superioare de igienă și nivelul superior al asistenței sanitare din mediul urban, date sustinute și de studiile din literatura de specialitate. De asemenea, nu se poate observa o concentrare a cazurilor într-o anumită zonă urbană, care ar putea fi explicată printr-o sursă de contaminare.

Un alt aspect interesant constă în prezența acestora cu precădere în Muntenia:

- Muntenia – 32 de cazuri
- Dobrogea – 4 cazuri
- Oltenia – 9 cazuri
- Moldova – 3 cazuri
- Transilvania – 4 cazuri
- Republica Moldova – 1 caz
- Banat, Crisana și Maramureș – 0 cazuri

În timp ce în Dobrogea și Moldova au fost doar 7 cazuri, în Muntenia și Oltenia au fost 41 de cazuri.

10.4. Identificarea agentului patogen

În cazul pacienților incluși în studiu, agentul cauzal a putut fi identificat doar în 22 de cazuri, reprezentând 41.5 % din numărul total de cazuri. Interesant este faptul că un pacient a prezentat infecție cu două serotipuri diferite de *Escherichia coli* producătoare de shigatoxină – O26 și O157.

De asemenea, este interesant de evidențiat faptul că cea mai frecvent întâlnită tulpină de *Escherichia coli* pusă în evidență a fost O26 și nu O157 așa cum ar fi fost de așteptat.

Problema identificării agentului cauzal este o problemă sensibilă în cazul Sindromului Hemolitic Uremic, în general, iar în mod particular, în cazurile pacienților din România cu această patologie, aspectele implicate fiind tratamentul antibiotic empiric administrat în prodromul diareic, precum și dificultăți în identificarea prin teste a prezenței shigatoxinei în probele din scaun.

10.5. Perioada de spitalizare

În ceea ce privește perioada de spitalizare, în urma prelucrării statistice a datelor am constatat **perioada medie** de spitalizare în cazul lotului nostru de pacienți a fost de **19,64 zile**, iar **mediana** perioadei de spitalizare a fost de **18 zile**. Eliminând valoarea extremă de 72 de zile de spitalizare care mărește eronat perioada medie de spitalizare (un singur caz a avut 72 de zile de spitalizare, următorul ca durată fiind de 33 de zile), obținem o valoare medie de **18 zile** de spitalizare. Comparând datele din literatură cu datele obținute de noi, durata de spitalizare a fost ceva mai mare în cadrul spitalului nostru – cu 3-4 zile.

10.6. Perioada de la debutul prodromului până la diagnosticul de Sindrom Hemolitic Uremic

Dintre cei 53 de pacienți, doar în cazul a 49 de pacienți a putut fi stabilit acest interval. Pentru 4 pacienți acest lucru nu a fost posibil, datorită absenței datelor relevante. După prelucrarea statistică a datelor, se observă că **media** acestui interval de timp este de **4.98 zile**, iar **mediana** intervalului scurs între primele simptome și stabilirea diagnosticului de Sindrom Hemolitic Uremic în cazul pacienților internați în Secția de Nefrologie a Spitalului Clinic de Urgență pentru Copii "Maria Skłodowska Curie" București a fost de **5 zile**.

Corelând datele obținute cu cele din literatura de specialitate, observăm scurtarea intervalului scurs între primele simptome și stabilirea diagnosticului de Sindrom Hemolitic Uremic, inclusiv în privința limitei minime a acestuia, care la noi a fost de 2 zile (întâlnită chiar la un număr important de pacienți – 7, reprezentând 13,2 % din totalul pacienților), comparativ cu limita de 3 zile din studii asemănătoare.

10.7. Tratamentul cu antibiotice anterior internării în Clinica de Nefrologie

Din analiza datelor pacienților, se observă că s-a folosit un spectru foarte larg de antibiotice pentru tratamentul prodromului diareic provocat de STEC, aspect ce se abate de la consensul existent în comunitatea științifică în privința tratamentului cu antibiotice efectuat în cazul infecției cu STEC și a dezvoltării ulterioare a Stx-SHU - administrarea de antibiotice și medicamente ce încetinesc motilitatea intestinală, administrate în primele 3-4 zile ale sindromului diareic, cresc riscul de apariție al Stx-SHU. Această abordare a favorizat probabil apariția Stx-SHU în cazul pacienților care au primit antibiotice anterior internării în spitalul nostru.

10.8. Tratamentul cu antibiotice în cursul internării în Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii "Maria Skłodowska Curie" București

În studiul de față, 47 de pacienți au primit tratament cu antibiotice pe parcursul internării în spitalul nostru, existând mai multe motivații pentru acest aspect: tratamentul a fost efectuat la indicația medicilor din diferite specialități medicale, consultați pentru complicațiile SHU-Stx, o mare varietate de antibiotice au fost folosite pe parcursul zilelor în care pacienții au fost tratați în secția ATI, SHU-Stx este o afecțiune severă și care prezintă multe complicații, precum și lipsa implementării mai timpurii a unei conduite unitare privind antibioterapia în tratamentul SHU-Stx.

De menționat faptul că 4 dintre pacienții care au fost tratați fără antibiotice, au fost internați în anul 2019 și reprezintă o dovadă a evoluției algoritmului de tratament pentru Sindrom Hemolitic Uremic, dezvoltat și perfecționat pe parcursul anilor în Spitalul "Maria Skłodowska Curie", pe baza acumulării experienței în tratarea acestei patologii.

10.9. Tratamentul cu antifungice în cursul internării în Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii "Maria Skłodowska Curie" București

Tratamentul cu antifungice a fost utilizat la 14 dintre pacienții din lotul studiat și a fost impus de complicațiile apărute în cursul evoluției bolii și a procedurilor terapeutice efectuate. Infecțiile fungice au fost determinate de:

- tratamentul cu antibiotice cu spectru larg
- prezența sondei urinare pentru o perioadă îndelungată
- prezența îndelungată a cateterelor venoase centrale
- prezența cateterului de dializă peritoneală

10.10. Perioada de timp pentru care a fost necesară dializa

Din prelucrarea statistică a datelor din studiul meu se observă că:

- durata medie de dializă a fost de **11,71 zile**
- mediana a fost de **11 zile**
- datorită unei distribuții multimodale, modulul nu poate indica în mod clar o anumită tendință, dar aici se observă că datele se aseamănă cu cele din studiile internaționale, cele mai frecvente cazuri fiind cu **8,9 sau 13 zile de dializă**

Studiile internaționale nu au evidențiat superioritatea vreunei metode de dializă în tratamentul populației pediatrice cu SHU-Stx, dar au constatat că cea mai frecvent folosită metodă este dializa peritoneală. Aceste constatări sunt în concordanță și cu tratamentul de suplinire a funcției renale practicate în Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii "Maria Sklodowska Curie" București, unde principala metodă folosită este dializa peritoneală.

10.11. Tratamentul cu derivate de sânge al pacienților cu SHU

Datele obținute din studiu arată că 40 de pacienți au primit transfuzii de masă eritocitară. Aceste date se aliniază cu datele din studiile internaționale care precizau un procent de 80% dintre pacienții cu SHU ca fiind tratați cu transfuzii de masă eritocitară. În cazul nostru procentul a fost de 75% dintre pacienții cu SHU-Stx.

De asemenea, 7 pacienți au primit transfuzii cu masă trombocitară, reprezentând 13% din totalul pacienților, aceste date corelandu-se cu cele din studiile internaționale, care precizează că transfuziile cu masă trombocitară sunt rar folosite.

10.12. Complicațiile apărute în cursul Sindromului Hemolitic Uremic

Analizând evoluția cazurilor de Sindrom Hemolitic Uremic, la pacienții din lotul studiat, complicațiile constatate au fost variate: cardiovasculare – 26 de pacienți, infecțioase – 22 de pacienți, neurologice – 11 pacienți, pulmonare – 4 pacienți. La acestea se pot adăuga o serie de manifestări renale care sunt determinate de SHU și pot fi încadrate ca și complicații: glomerulopatia secundară, manifestată prin hematurie și proteinurie – 47 de cazuri și sindrom nefrotic – 1 caz. Complicațiile extrarenale apar relativ rar în SHU, dar atunci când sunt prezente reflectă o evoluție gravă și un prognostic sever.

11. Protocolul terapeutic elaborat pentru Sindromul Hemolitic Uremic determinat de Shigatoxină

Al doilea obiectiv al prezentei lucrări l-a constituit sistematizarea tratamentului în cazul Sindromului Hemolitic Uremic determinat de Shigatoxină, la pacienții de vârstă pediatrică. El reflectă progresele făcute în tratamentul acestei patologii în cadrul secției noastre, corelate desigur cu progresele realizate pe plan internațional.

Trebuie menționat faptul că din anul 2017 și până în prezent, în secția de Nefrologie a Spitalului Clinic de Urgență pentru Copii "Maria Sklodowska Curie" București, nu a mai existat nici un deces în cazurile de Sindrom Hemolitic Uremic.

Principalele măsuri din protocolul terapeutic sunt reprezentate de:

1. Limitarea administrării de antibiotice de la debutul bolii atâta timp cât ne permite starea pacientului (acesta să nu fie septic și să nu fi primit deja antibiotic până la admisia în clinica noastră)
2. Limitarea depletiei volemice intravasculare (element fiziopatologic major în SHU)
 - este importantă administrarea de bolusuri de ser fiziologic la debutul bolii
3. Managementul manifestărilor hidro-electrolitice și acido-bazice
4. Inițierea epurării extrarenale

Indicațiile instituirii procedurilor de substituție renală în Clinica de Nefrologie sunt următoarele :

- oligoanuria (diureză mai mică de 0,5ml/kg/h la copiii cu vârstă de peste 1 an și diureză mai mică de 1 ml/kg/h la copiii cu vârstă mai mică de 1 an), refractară la tratament (tratament de minim 12 ore)
- retenție azotată importantă : - uree serică peste 100 mg/dL
 - clearance la creatinină între 10-15

ml/1.73 m²/minut (formula Swchartz)

- supraîncarcare lichidiană importantă (HTA, insuficiență cardiacă congestivă, edem pulmonar acut), refractară la tratament;
- dezechilibre electrolitice și acido-bazice severe

5. Tratamentul tulburărilor hematologice (anemia și, în anumite situații, trombocitopenia)
6. Tratamentul complicațiilor

PERSPECTIVE

1. Introducerea substituției de epurare extrarenală și anume hemodiafiltrarea la pacienții cu greutate mai mică de 10 kg.
2. Folosirea de anticorpi monoclonali - Eculizumab la pacienții care prezintă manifestări neurologice complexe, care nu au răspuns la terapia cu corticosteroizi.
3. Colaborarea cu echipe de medici și laboratoare din vestul Europei pentru determinarea SHU forma atipică și a purpurei trombotice trombocitopenice.

BIBLIOGRAFIE selectivă

1. Bălgrădean M. (2005). *Patologia actuală în nefrologia pediatrică*. Editura Universitară "Carol Davila". București, 2011;158-163
2. Dunea G, Muerke RC, Nakamoto S, et al. *Thrombotic thrombocytopenic purpura with acute anuric renal failure*. Am J Med 1966;41:1000.
3. Sheth KJ, Swick HM, Haworth N. *Neurological involvement in hemolytic-uremic syndrome*. Ann Neurol 1986;19:90.
4. Loirat C, Fremeaux-Bacchi V. *Atypical hemolytic uremic syndrome*. Orphanet J Rare Dis 2011;6:60.
5. Vitsky BH, Suzuki Y, Strauss L, et al. *The hemolytic-uremic syndrome: a study of renal pathologic alterations*. Am J Pathol 1969;57:627.
6. Goldstein MH, Churg J, Strauss L, et al. *Hemolytic-uremic syndrome*. Nephron 1979;23:263.
7. Habib R, Mathieu H, Royer P. *Le syndrome h'émolytique et ur'émique de l'enfant: aspects cliniques et anatomiques dans 27 observations*. Nephron 1967;4:139.
8. Waxman L. *Calcium-activated proteases in mammalian tissues*. Methods Enzymol 1981;80:664.
9. Shigematsu H, Dikman SH, Churg J, et al. *Mesangial involvement in hemolytic-uremic syndrome*. Am J Pathol 1976;85:349.
10. Baldwin TJ, Ward W, Aitken A, et al. *Elevation of intracellular free calcium levels in HEp-2 cells infected with enteropathogenic Escherichia coli*. Infect Immun 1991; 59:1599.
11. Craig JM, Gitlin D. *The nature of the hyaline thrombi in thrombotic thrombocytopenic purpura*. Am J Pathol 1957;33:251.
12. Kwaan HC. *Role of fibrinolysis in thrombotic thrombocytopenic purpura*. Semin Thromb Hemost 1979;6:395.
13. Gasser C, Gautier E, Steck A, et al. *Hemolytic-uremic syndrome: bilateral necrosis of the renal cortex in acute acquired hemolytic anemia*. Schweiz Med Wochenschr 1955;85(38-39):905-909.
14. Alfrey AC. *The renal response to vascular injury*. In: Brenner BM, Rector FC, eds. The Kidney. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 1981:1668.
15. Pirani CL. *Coagulation and renal disease*. In: Bertani T, Remuzzi G, eds. Glomerular Injury 300 Years After. Morgagni, Milano: Wichtig; 1983;119.
16. Gervais M, Richardson JB, Chiu J, et al. *Immunofluorescent and histologic findings in the hemolytic uremic syndrome*. Pediatrics 1971;47:352.
17. Habib R, Cortecuisse V, Leclerc F, et al. *Etude anatomopathologique de 35 observations de syndrome h'émolytique et ur'émique de l'enfant*. Arch Franc Pediatr 1969;26:391.
18. Sherman P, Soni R, Karmali MA. *Attaching and effacing adherence of verocytotoxin-producing Escherichia coli to rabbit intestine in-vivo*. Infect Immun 1988;56:756.
19. Acheson DW, Moore R, De Brueker S, et al. *Translocation of Shiga toxin across polarized cells in tissue culture*. Infect Immun 1996;64:3294.
20. Hurley BP, Thorpe CM, Acheson DW. *Shiga toxin translocation across intestinal epithelial cells is enhanced by neutrophil transmigration*. Infect Immun 2001;69:6148
21. Te Loo DM, Monnens LA, van Der Velden TJ, et al. *Binding and transfer of verocytotoxin by polymorphonuclear leukocytes in hemolytic uremic syndrome*. Blood 2000;95:3396.

22. Te Loo DM, van Hinsberg VW, van den Heuvel LP, et al. *Detection of verocytotoxin bound to circulating polymorphonuclear leukocytes of patients with hemolytic uremic syndrome.* J Am Soc Nephrol 2001;12:800.
23. Brooks JT, Sowers EG, Wells JG, et al. 2005. *Non-O157 Shiga toxin producing Escherichia coli infections in the United States, 1983-2002.* J.Infect. Dis.192:1422–1429
24. Vallières E, Saint-Jean M, Rallu F. *Comparison of Three Different Method for Detection of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli in a Tertiary Pediatric Care Center.* J Clin Microbiol. 2013 Feb;51(2):481-6. doi: 10.1128/JCM.02219-12.
25. Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. *Shiga-toxin-producing Escherichia coli and haemolytic uraemic syndrome.* Lancet. 2005;365(9464):1073–86.
26. Ikeda K, Ida O, Kimoto K, et al. *Predictors for the development of haemolytic uraemic syndrome with Escherichia coli O157:H7 infections: with focus on the day of illness.* Epidemiol Infect.2000;124(3):343–9.
27. Rowe PC, Orrbine E, Lior H, et al. *Risk of hemolytic uremic syndrome after sporadic Escherichia coli O157:H7 infection: results of a Canadian collaborative study. Investigators of the Canadian Pediatric Kidney Disease Research Center.* J Pediatr. 1998;132(5):777–82.
28. Lopez EL, Contrini MM, Devoto S, et al. *Incomplete hemolytic uremic syndrome in Argentinean children with bloody diarrhea.* J Pediatr. 1995;127(3):364–7.
29. Edey MM, Mead PA, Saunders RE, et al. *Association of a factor H mutation with hemolytic uremic syndrome following a diarrheal illness.* Am J Kidney Dis. 2008;51(3):487–90.
30. Gupta A, Khaira A, Rathi OP, et al. *Diarrhea-related hemolytic uremic syndrome: unmasking antifactor H antibodies.* Saudi J Kidney Dis Transpl. 2011;22(5):1017–8.
31. Johnson S, Stojanovic J, Ariceta G, et al. *An audit analysis of a guideline for the investigation and initial therapy of diarrhea negative (atypical) hemolytic uremic syndrome.* Pediatr Nephrol. 2014;29(10):1967–78.
32. Loirat C, Fakhouri F, Ariceta G, et al. *An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children.* Pediatr Nephrol. 2016;31(1):15–39.
33. Rowe PC, Orrbine E, Wells GA, et al. *Epidemiology of hemolytic uremic syndrome in Canadian children from 1986 to 1988. The Canadian Pediatric Kidney Disease Reference Centre.* J Pediatr. 1991;119(2):218–24.
34. McLaine PN, Rowe PC, Orrbine E. *Experiences with HUS in Canada: what have we learned about childhood HUS in Canada?* Kidney Int Suppl. 2009;112:S25–8.
35. Trachtman H, Cnaan A, Christen E, et al. *Effect of an oral Shiga toxin binding agent on diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome in children: a randomized controlled trial.* JAMA. 2003;290(10):1337-44.

1. Vitsky BH, Suzuki Y, Strauss L, et al. *The hemolytic-uremic syndrome: a study of renal pathologic alterations*. Am J Pathol 1969;57:627.
2. Goldstein MH, Churg J, Strauss L, et al. *Hemolytic-uremic syndrome*. Nephron 1979;23:263.
3. Habib R, Mathieu H, Royer P. *Le syndrome h'émolytique et ur'émique de l'enfant: aspects cliniques et anatomiques dans 27 observations*. Nephron 1967;4:139.
4. Waxman L. *Calcium-activated proteases in mammalian tissues*. Methods Enzymol 1981;80:664.
5. Shigematsu H, Dikman SH, Churg J, et al. *Mesangial involvement in hemolytic-uremic syndrome*. Am J Pathol 1976;85:349.
6. Baldwin TJ, Ward W, Aitken A, et al. *Elevation of intracellular free calcium levels in HEp-2 cells infected with enteropathogenic Escherichia coli*. Infect Immun 1991; 59:1599.
7. Craig JM, Gitlin D. *The nature of the hyaline thrombi in thrombotic thrombocytopenic purpura*. Am J Pathol 1957;33:251.
8. Craig JM, Gitlin D. *The nature of the hyaline thrombi in thrombotic thrombocytopenic purpura*. Am J Pathol 1957;33:251.
9. Gasser C, Gautier E, Steck A, et al. *Hemolytic-uremic syndrome: bilateral necrosis of the renal cortex in acute acquired hemolytic anemia*. Schweiz Med Wochenschr 1955;85(38-39):905-909.
10. Alfrey AC. *The renal response to vascular injury*. In: Brenner BM, Rector FC, eds. The Kidney. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 1981:1668.
11. Pirani CL. *Coagulation and renal disease*. In: Bertani T, Remuzzi G, eds. Glomerular Injury 300 Years After. Morgagni, Milano: Wichtig; 1983:119.
12. Gervais M, Richardson JB, Chiu J, et al. *Immunofluorescent and histologic findings in the hemolytic uremic syndrome*. Pediatrics 1971;47:352.
13. Habib R, Cortecuisse V, Leclerc F, et al. *Etude anatomopathologique de 35 observations de syndrome h'émolytique et ur'émique de l'enfant*. Arch Franc Pediatr 1969;26:391.
14. Sherman P, Soni R, Karmali MA. *Attaching and effacing adherence of verocytotoxin-producing Escherichia coli to rabbit intestine in-vivo*. Infect Immun 1988;56:756.
15. Acheson DW, Moore R, De Brueker S, et al. *Translocation of Shiga toxin across polarized cells in tissue culture*. Infect Immun 1996;64:3294.
16. Hurley BP, Thorpe CM, Acheson DW. *Shiga toxin translocation across intestinal epithelial cells is enhanced by neutrophil transmigration*. Infect Immun 2001;69:6148

17. te Loo DM, Monnens LA, van Der Velden TJ, et al. *Binding and transfer of verocytotoxin by polymorphonuclear leukocytes in hemolytic uremic syndrome*. Blood 2000;95:3396.
18. te Loo DM, van Hinsberg VW, van den Heuvel LP, et al. *Detection of verocytotoxin bound to circulating polymorphonuclear leukocytes of patients with hemolytic uremic syndrome*. J Am Soc Nephrol 2001;12:800.
19. Brooks JT, Sowers EG, Wells JG, et al. 2005. *Non-O157 Shiga toxin-producing Escherichia coli infections in the United States, 1983-2002*. J. Infect. Dis. 192:1422–1429
20. Vallières E, Saint-Jean M, Rallu F. *Comparison of Three Different Methods for Detection of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli in a Tertiary Pediatric Care Center*. J Clin Microbiol. 2013 Feb;51(2):481-6. doi: 10.1128/JCM.02219-12.
21. Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. *Shiga-toxin-producing Escherichia coli and haemolytic uraemic syndrome*. Lancet. 2005;365(9464):1073–86.
22. Ikeda K, Ida O, Kimoto K, et al. *Predictors for the development of haemolytic uraemic syndrome with Escherichia coli O157:H7 infections: with focus on the day of illness*. Epidemiol Infect. 2000;124(3):343–9.
23. Rowe PC, Orrbine E, Lior H, et al. *Risk of hemolytic uremic syndrome after sporadic Escherichia coli O157:H7 infection: results of a Canadian collaborative study. Investigators of the Canadian Pediatric Kidney Disease Research Center*. J Pediatr. 1998;132(5):777–82.
24. Lopez EL, Contrini MM, Devoto S, et al. *Incomplete hemolyticuremic syndrome in Argentinean children with bloody diarrhea*. J Pediatr. 1995;127(3):364–7.
25. Edey MM, Mead PA, Saunders RE, et al. *Association of a factor H mutation with hemolytic uremic syndrome following a diarrheal illness*. Am J Kidney Dis. 2008;51(3):487–90.
26. Gupta A, Khaira A, Rathi OP, et al. *Diarrhea-related hemolytic uremic syndrome: unmasking antifactor H antibodies*. Saudi J Kidney Dis Transpl. 2011;22(5):1017–8.
27. Johnson S, Stojanovic J, Ariceta G, et al. *An audit analysis of a guideline for the investigation and initial therapy of diarrhea negative (atypical) hemolytic uremic syndrome*. Pediatr Nephrol. 2014;29(10):1967–78.
28. Loirat C, Fakhouri F, Ariceta G, et al. *An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children*. Pediatr Nephrol. 2016;31(1):15–39.
29. Rowe PC, Orrbine E, Wells GA, et al. *Epidemiology of hemolytic uremic syndrome in Canadian children from 1986 to 1988. The Canadian Pediatric Kidney Disease Reference Centre*. J Pediatr. 1991;119(2):218–24.
30. McLaine PN, Rowe PC, Orrbine E. *Experiences with HUS in Canada: what have we learned about childhood HUS in Canada?* Kidney Int Suppl. 2009;112:S25–8.
31. Trachtman H, Cnaan A, Christen E et al. *Effect of an oral Shigatoxin-binding agent on diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome in children: a randomized controlled trial*. JAMA. 2003;290(10):1337-44.