



O LABORATÓRIO NO
ESTADO SÉPTICO
e **TECNOLOGIAS ÔMICAS**

O laboratório no estado séptico

• Sepses

É uma disfunção de múltiplos órgãos causada por uma resposta desregulada do hospedeiro à infecção. (1)

A sepsis é definida como disfunção secundária de múltiplos órgãos a um processo infeccioso, podendo evoluir para a fase de choque séptico (comprometimento circulatório) com alto risco de mortalidade.

Investigações recentes permitem diagnóstico precoce e abordagem terapêutica oportuna, com diminuição da morbimortalidade a curto e médio prazos.

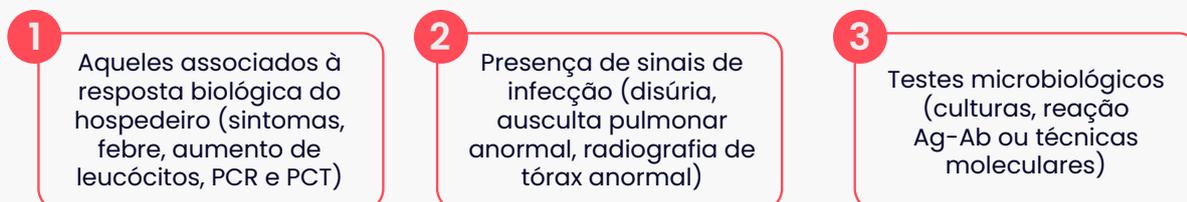
Foi o filósofo e médico grego Hipócrates quem descreveu o curso clínico do choque séptico dizendo que “quando a febre contínua persiste, é perigoso se as partes externas do corpo permanecerem frias, mas as partes internas estiverem queimando”. Esse conceito de sepsis, introduzido nos tempos clássicos, perdurou até o século XIX.

A sepsis foi definida cientificamente em 1914, como “um estado causado pela invasão bacteriana de uma fonte local de infecção na corrente sanguínea, que leva ao aparecimento de sinais de doença sistêmica em órgãos remotos”.

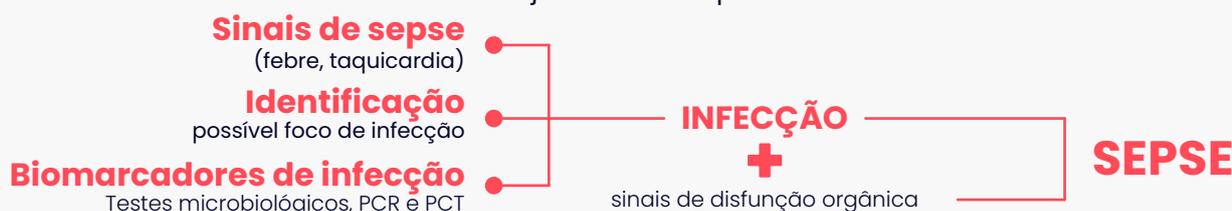
O conceito moderno de sepsis concentrou-se na resposta do corpo à infecção. William Osler foi o primeiro a reconhecer esse importante papel, afirmando que o paciente parece morrer pela resposta de seu corpo à infecção e não pela própria infecção. Essa visão representa a pedra angular da compreensão do papel que a resposta do hospedeiro desempenha na sepsis: a sepsis é o resultado da resposta inflamatória à infecção.

• Definição de infecção e sepsis

A INFECÇÃO é um processo patológico causado pela invasão de microrganismos patogênicos ou potencialmente patogênicos em tecidos, fluidos e cavidades corporais, geralmente estéreis. Para a identificação dela são utilizados 3 tipos de dados:



Vejamos um esquema:

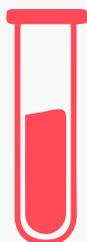


Fontes:

(1) Singer, M et al, JAMA2016;35(8):801-10). Terceiro Consenso Internacional sobre Sepsis y Shock Séptico.

• Biomarcadores de infecção/Sepse

Um biomarcador é definido como uma característica que pode ser medida e avaliada como um indicador de um processo biológico normal, um processo patológico ou a resposta a uma intervenção terapêutica.



Na revisão clássica de Pierrakos em 2010, 170 biomarcadores foram avaliados para fins diagnósticos e prognósticos. Concluiu-se que nenhum deles apresentou sensibilidade ou especificidade suficiente para ser utilizado rotineiramente na prática clínica. A procalcitonina e a proteína C-reativa são os biomarcadores mais amplamente utilizados, embora tenham algumas limitações. A fração média de proadrenomedulina e presepsina estão em estudo.

• Classificação dos biomarcadores.

Citocinas e quimiocinas: são moléculas amplamente investigadas como biomarcadores de sepse, pois são mediadores importantes na fisiopatologia da doença.

Mas elas também aumentam em várias condições inflamatórias não infecciosas, como cirurgia e trauma. Essa falta de especificidade, a curta vida plasmática e baixa estabilidade biológica delas limitam o uso no diagnóstico de infecção e de sepse.

1 Proteína C-Reativa (PCR)

É o protótipo das proteínas envolvidas na fase aguda da inflamação. É uma proteína de síntese hepática presente em qualquer tipo de inflamação ou lesão tecidual. Embora a IL-6 seja o principal estímulo para a síntese da PCR, outras citocinas, como IL-8 e IL-10, também estão envolvidas nessa produção.

Para além da baixa especificidade, a utilidade da PCR para o diagnóstico precoce da infecção é limitada pela cinética, uma vez que começa a aumentar às 12 horas e atinge a concentração máxima às 48 horas, com posterior elevação de outros biomarcadores de utilidade diagnóstica, como a procalcitonina (PCT). Além disso, o fígado continua a sintetizar PCR por vários dias, mesmo quando o estímulo inflamatório desapareceu, de modo que a concentração pode estar elevada mesmo na fase de remissão da infecção, circunstância que limita um possível valor prognóstico e os índices dessa proteína para orientar a terapia com antibióticos. Apesar do exposto, a medição de PCR continua a ser usada em locais de emergência.



2 Procalcitonina (PCT)

É o polipeptídeo precursor da calcitonina, um hormônio envolvido na homeostase do cálcio. Quanto à cinética dele, a indução da PCT é rápida, sendo detectada 3 a 6 horas após o estímulo bacteriano, atingindo o nível máximo em 12 a 24 horas, e com vida média de 24 horas.

Não se pode afirmar que a PCT seja o biomarcador ideal de infecção, pois aumentos na concentração podem ser observados em condições não infecciosas. Apesar disso, é atualmente o biomarcador mais útil no diagnóstico de infecção e de predição de bacteremia, da avaliação da gravidade da situação e da tomada de decisão quanto ao estabelecimento do tratamento antibiótico e a resposta a ele. Continua a ser uma ferramenta útil no monitoramento do tratamento com antibióticos.

Um grande número de estudos avaliou o desempenho diagnóstico da PCT, mostrando a superioridade desta sobre a PCR. Numerosos estudos avaliaram a utilidade da PCT para orientar a antibioticoterapia em pacientes com infecção grave e sepse.



• Papel do laboratório no diagnóstico da sepse

É muito importante diferenciar a sepse da Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica, que às vezes representa um desafio diagnóstico entre as duas condições. Seria muito conveniente ter um biomarcador com alta sensibilidade, especificidade, rapidez e exatidão para aplicar a antibioticoterapia a tempo. Além disso, 40% das hemoculturas permanecem negativas (2).

Testes aprovados pela FDA:

1 Procalcitonina (PCT)

Está elevada em pacientes com infecções bacterianas invasivas. Tem efeitos pró-inflamatórios semelhantes ao da PCR. O FDA aprovou um kit para verificar o risco de sepse grave em pacientes gravemente enfermos desde o primeiro dia de internação na UTI.

Esse teste pode diferenciar a sepse da Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica, verificada em 30 estudos com 3.244 pacientes (3).

Algoritmos para a interrupção do tratamento com antibióticos usando medição de PCT foram estudados. Embora a PCT esteja intimamente ligada à inflamação, ela não é totalmente específica para infecção: pode estar elevada em vários distúrbios na ausência de inflamação, especialmente como resultado de trauma. Uma única medida não é útil para o diagnóstico ou o prognóstico da sepse.



2 Analitos aprovados pela FDA que não são específicos para sepse

LACTATO: o valor diagnóstico e prognóstico do lactato em pacientes com sepse foi bem estabelecido em atendimento de emergência em pacientes com prognóstico ruim e alta mortalidade.

A medição seriada do lactato sérico pode ser útil na monitorização e é recomendada no choque séptico, especialmente quando o nível inicial é alto. Aqueles com níveis mais elevados têm alta mortalidade. O monitoramento da depuração do lactato por meio de uma série contínua de medições é um preditor útil de morbidade e mortalidade.

Infelizmente, também é elevado em outras condições, como trauma, convulsões ou atividade muscular excessiva.



3 PROTEÍNA C-REATIVA (PCR)

É sintetizada no fígado em resposta à infecção ou à inflamação e é usado para monitorar condições nas quais a inflamação crônica está presente. A concentração sérica pode subir até 1.000 vezes em eventos inflamatórios agudos. Devido à boa reprodutibilidade, ampla disponibilidade e baixo custo, a PCR é utilizada como biomarcador para o diagnóstico de sepse. A média em pacientes com infecção é de 12,1 mg/dL e a de pacientes sem infecção é de 5,6 mg/dL. Um nível ideal de discriminação é de 7,9 mg/dL. Infelizmente, 33% dos pacientes sem infecção apresentam níveis de PCR superiores a 7,9 mg/dL. (4)



• Citocinas



Elas são reguladores produzidas pelo sistema imunológico em resposta a infecções ou danos. Tem um papel importante na complicada fisiopatologia da sepse. As mais estudadas no diagnóstico de sepse têm sido a IL-6, IL-8 e IL-10.

As citocinas são úteis para monitorar a resposta inflamatória e permitem verificar a gravidade da sepse, diferenciando-a da Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica.

• Dímero



A sepse está associada a defeitos na homeostase e ao desenvolvimento de coagulação intravascular disseminada. O D-dímero é um produto da degradação da fibrina após a fibrinólise. Há uma elevação acentuada desse dímero em pacientes com sepse e está relacionada à própria gravidade.

Fontes:

(4) EUA, Alemanha, Nova Zelândia, Reino Unido e Japão.

• PROADRENOMEDULINA



É um potente vasodilatador que se altera em processos inflamatórios e infecciosos. É utilizado como biomarcador prognóstico da evolução da doença.

• BIOMARCADORES DO MIOCÁRDIO



A troponina, os peptídeos natriuréticos e a mioglobina estão associados à disfunção miocárdica na sepse. A mioglobina é um marcador inespecífico sensível de dano miocárdico. Ela aumenta gradativamente nas primeiras 24 horas após a internação e o aumento dela está relacionado à gravidade do quadro.

Embora o monitoramento seja excelente na sepse, um único biomarcador não reflete a realidade das rápidas mudanças imunológicas que ocorrem. Por essa razão, um sistema multibiomarcador é recomendado para medir o risco do paciente.

O melhor painel de biomarcadores para o diagnóstico de sepse é aquele que inclui marcadores inflamatórios e anti-inflamatórios.

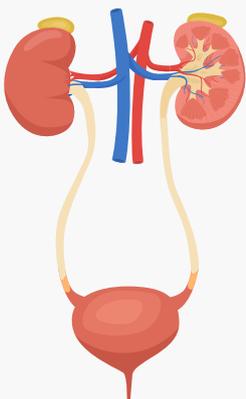
• SOFA (Sequencial [sepsis related] Organ Failure (Falha de órgão sequencial [relacionada à sepse]))

Pacientes sépticos podem desenvolver falência de órgãos diretamente relacionada ao processo séptico, como diminuição da função pulmonar, distúrbios de coagulação, disfunção hepática e comprometimento cardiovascular, do sistema nervoso central e da função renal.

Essas mudanças são quantificadas pelo cálculo do **SOFA Score**

- gases arteriais = função
- pulmonar, bilirrubina = função
- hepática, creatinina = função
- renal, plaquetas = coagulação)

• SEPSE GRAVE POR ESCHERICHIA coli



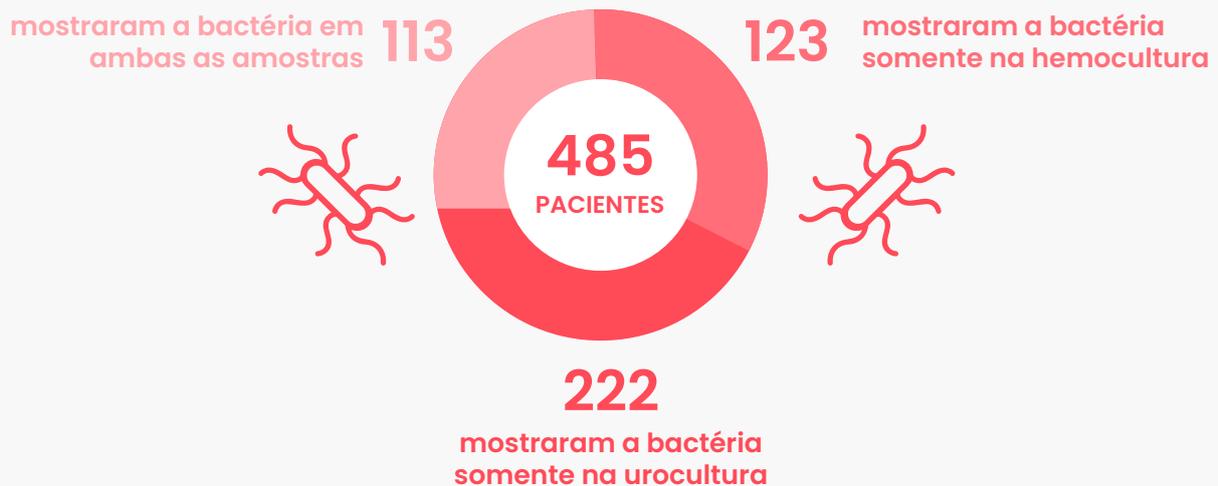
Essa bactéria causa um amplo espectro de infecções, desde infecção não complicada do trato urinário até sepse grave com choque séptico. A Escherichia coli é reconhecida como uma importante causa de infecção do trato urinário, sepse, bacteremia e infecção gastrointestinal.

Na população adulta, o trato urinário pode ser considerado o principal foco de infecção por esse microrganismo e a origem para o desenvolvimento de sepse.

Dos 458 pacientes que tiveram infecção por E. coli, 123 apresentaram a bactéria apenas na hemocultura, 222 apenas na urocultura e 113 em ambas as amostras. O isolamento apenas na hemocultura foi associado à maior frequência de internação na UTI. (5)

O E. coli continua a ser uma causa importante e talvez a mais frequente de infecções com risco de vida. Na população adulta, o trato urinário pode ser considerado o principal foco de infecção por esse microrganismo.

Em conclusão, o E. coli continua sendo uma importante causa de sepse em nosso meio, sendo a infecção do trato urinário o principal diagnóstico associado a esse microrganismo.



• SEPSE NEONATAL

É caracterizada pelo crescimento de bactérias e/ou fungos em uma cultura de sangue, LCR, urina ou outro local normalmente estéril.

Os biomarcadores atuais para o diagnóstico de sepse neonatal têm precisão limitada. O desenvolvimento da Medicina de Precisão baseada em tecnologias ômicas (metabolômica, proteômica e genômica/transcriptômica) oferece uma oportunidade para melhorar o diagnóstico da sepse neonatal.

Os testes baseados em ômicas têm alta sensibilidade, sendo os de melhor desempenho aqueles com base em genômica/transcriptômica.

A sepse neonatal é a principal causa de morbidade e mortalidade no recém-nascido. É definida como uma condição sistêmica causada por uma infecção bacteriana, fúngica ou viral, com isolamento dos microrganismos patogênicos em algum fluido corporal estéril, como sangue e líquido cefalorraquidiano.

As manifestações clínicas não são constantes nem específicas. O padrão de referência atualmente aceito para diagnóstico é o isolamento microbiano do sangue ou fluidos corporais estéreis (6).

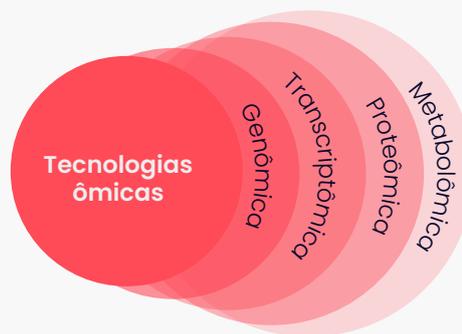
Fontes:

(5) Peralta G. et al, BMC Infect Dis 2012;12:245

(6) Puopolo K M, Pediatrics 2018;142 (6) : c20182894

No entanto, essa técnica é limitada pelo tempo necessário para obter o resultado da cultura e pelas altas taxas de falsos negativos e positivos (7).

Com base nisso, derivou-se o esforço de identificar biomarcadores úteis no diagnóstico da sepse neonatal que tenham a capacidade de identificar o recém-nascido que requer tratamento em tempo hábil, melhorando assim o resultado da doença e evitando a exposição desnecessária a agentes antimicrobianos. Os mais comumente usados são os reagentes de fase aguda, como a proteína C-reativa (PCR) e a procalcitonina. Em geral, com os exames laboratoriais, isoladamente ou em combinação, observa-se baixa sensibilidade e especificidade para a tomada de decisão adequada e oportuna no tratamento da sepse neonatal, o que leva à exposição desnecessária do recém-nascido aos antimicrobianos.



Recentemente, houve avanços na chamada Medicina de Precisão, principalmente com o desenvolvimento das tecnologias "ômicas", conhecidas como genômica, transcriptômica, proteômica e metabolômica. O desenvolvimento dessa tecnologia pode ajudar a orientar a predisposição genética à sepse, o que permite aumentar o suporte no diagnóstico de sepse neonatal. Essas novas tecnologias têm o potencial de oferecer novas informações ou dados que podem influenciar as decisões clínicas nos casos de sepse neonatal.

Os biomarcadores atuais para o diagnóstico de sepse neonatal têm precisão limitada. As tecnologias ômicas oferecem uma oportunidade para melhorar o diagnóstico de sepse neonatal.

• PURIFICAÇÃO SANGUÍNEA

A sepse é uma das principais causas de morte em pacientes críticos com covid-19.

O vírus pode induzir uma tempestade de citocinas e, portanto, elevação de mediadores inflamatórios, o que está associado à maior gravidade e à pior evolução clínica (8).

Existe uma terapia de purificação do sangue que imunomodula a resposta inflamatória excessiva, o que melhora o curso clínico.

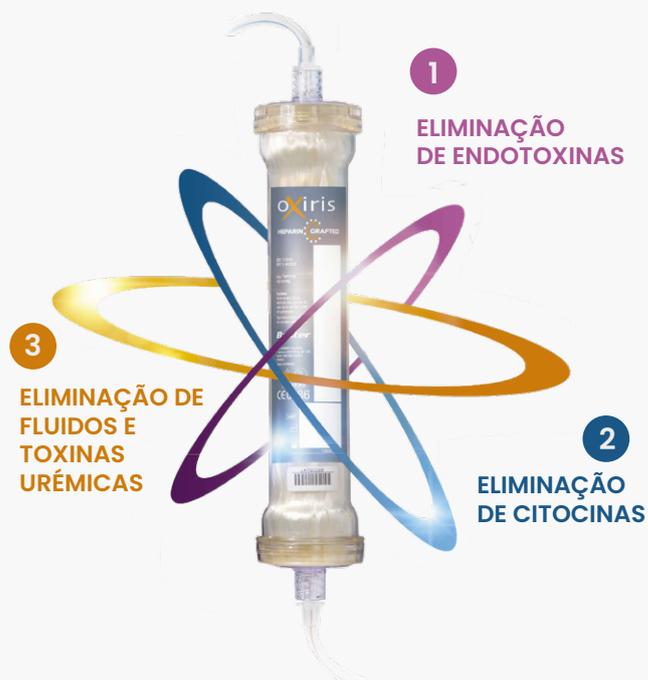
Fontes:

(7) Sinha M, Clin Microbiol Rev 2018;31 (2):e00089-17.

(8) Qin C et al; China Wuhan. Clin Infect Disease 2020;71 (15):76

Para isso, é utilizado um equipamento de purificação denominado “filtro oXiris (9). É citado um paciente de 55 anos que desenvolveu sepse por *Pseudomonas aeruginosa* refratária à terapia padrão. A hemofiltração venovenosa com filtro oXiris foi realizada por 48 horas. Houve redução dos parâmetros inflamatórios e melhora clínica. O paciente recebeu alta da UTI após um mês de internação.

As terapias de purificação do sangue têm um papel relevante na remoção de citocinas e endotoxinas em pacientes com sepse e covid-19 em estados hiperinflamatórios, demonstrando imunomodular a resposta inflamatória desadaptativa com suporte fisiopatológico (10).



• CONTRIBUIÇÃO DO LABORATÓRIO CLÍNICO

Nas Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) não coronarianas, a sepse é a principal causa de morte de pacientes. As principais infecções são as do trato respiratório inferior, trato urinário e as otorrinolaringológicas. Para lidar com esse grave perigo, é essencial identificar precocemente os pacientes de alto risco, colher hemoculturas, controlar a fonte de infecção e administrar antibióticos adequados.

As principais infecções são



Vias respiratórias inferiores



Trato urinário

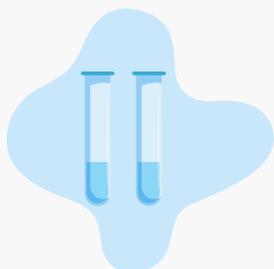


Otorrinolaringologia

Fonte:
(18) Elizabeth Corwin, Universidade da Columbia

Tecnologias ômicas

Esta revisão sistemática das tecnologias “ômicas” lança luz sobre a importância da medicina de precisão no campo do diagnóstico de sepse neonatal. Em especial, mostra avanços na descoberta de diferentes metabólitos, proteínas, genes e vias de expressão gênica que, isoladamente ou combinados em um painel de biomarcadores, eles têm potencial futuro como novos biomarcadores para identificar o recém-nascido com sepse.



Isso permite confirmar um perfil de expressão diferencial no proteoma, metaboloma e genoma/transcriptoma do neonato com infecção em relação ao não infectado.

Nesse quadro, o desempenho geral das tecnologias ômicas mostrou boa sensibilidade para o diagnóstico de sepse, sendo o melhor desempenho aquele baseado em dados genômicos. As manifestações clínicas e os biomarcadores atualmente utilizados têm baixo rendimento diagnóstico. É preferível combinar técnicas ômicas para melhor desempenho.

• PROTEOMA

É definido como todo o grupo de proteínas produzidas pelo corpo. As proteínas são produzidas em quantidades diferentes e em momentos diferentes, dependendo de como funcionam, quando são necessárias e como interagem com outras proteínas dentro das células. A importância de estudar o proteoma por meio da proteômica reside no fato de que, por esta, podemos entender as interações que as proteínas de um organismo têm.

As informações sobre o proteoma podem ajudar a encontrar as proteínas envolvidas em doenças, como o câncer, e produzir medicamentos para combatê-lo.

Proteômica é o estudo do proteoma: abrange a exploração de proteomas com base no nível geral da composição, na estrutura e na atividade da proteína.

O proteoma é o conjunto de proteínas que se expressam ou podem se expressar embasado no genoma de uma célula, um tecido ou um organismo, em um determinado momento e condição. O termo foi usado pela primeira vez em 1994 para se referir ao número total de proteínas codificadas por um genoma.

Proteoma subcelular: é o conjunto de proteínas encontradas em uma determinada organela, como as mitocôndrias. Esse proteoma pode ser composto por mais de 3.000 proteínas diferentes.

Fontes:

(19) Bijan Borah, Ph.D., Mayo Clinic.

(20) Imperial College of London.



Proteoma subcelular: é o conjunto de proteínas encontradas em uma determinada organela, como as mitocôndrias. Esse proteoma pode ser composto por mais de 3.000 proteínas diferentes.

Proteoma celular: conjunto de proteínas encontradas em um determinado tipo celular, em uma condição e um tempo específicos.

Proteoma completo: conjunto de proteínas que um organismo tem, seja ele unicelular ou pluricelular. É expresso com base no genoma completo.

Atualmente, a pesquisa em proteomas está focada no desenvolvimento de métodos precisos e relativamente rápidos para identificar e caracterizar proteínas. As técnicas clássicas mais difundidas são a eletroforese em gel bidimensional e a espectrometria de massa.

Enquanto o genoma é uma entidade bastante constante, o proteoma difere de célula para célula e experimenta mudanças por meio de suas interações bioquímicas com o genoma e o meio ambiente.

Os principais objetivos do Projeto Proteoma Humano são a caracterização de todas as proteínas humanas em um contexto biológico, juntamente com o desenvolvimento de novas ferramentas e reagentes que possam ser posteriormente utilizados pelas comunidades científica, clínica, biotecnológica e farmacêutica.

• METABOLOMA

É o conjunto completo de pequenas moléculas chamadas metabólitos (como intermediários metabólicos, hormônios e outras moléculas). Metabólitos são pequenas moléculas presentes em células e tecidos. Eles ocorrem quando o corpo decompõe alimentos, medicamentos, produtos químicos ou seu próprio tecido.

É o conjunto completo de metabólitos orgânicos que são produzidos dentro de uma célula sob a direção do genoma.

Metabolômica refere-se ao estudo sistemático de identificação e quantificação de pequenas moléculas que são o produto de reações biológicas em seres vivos e podem ser medidas em:



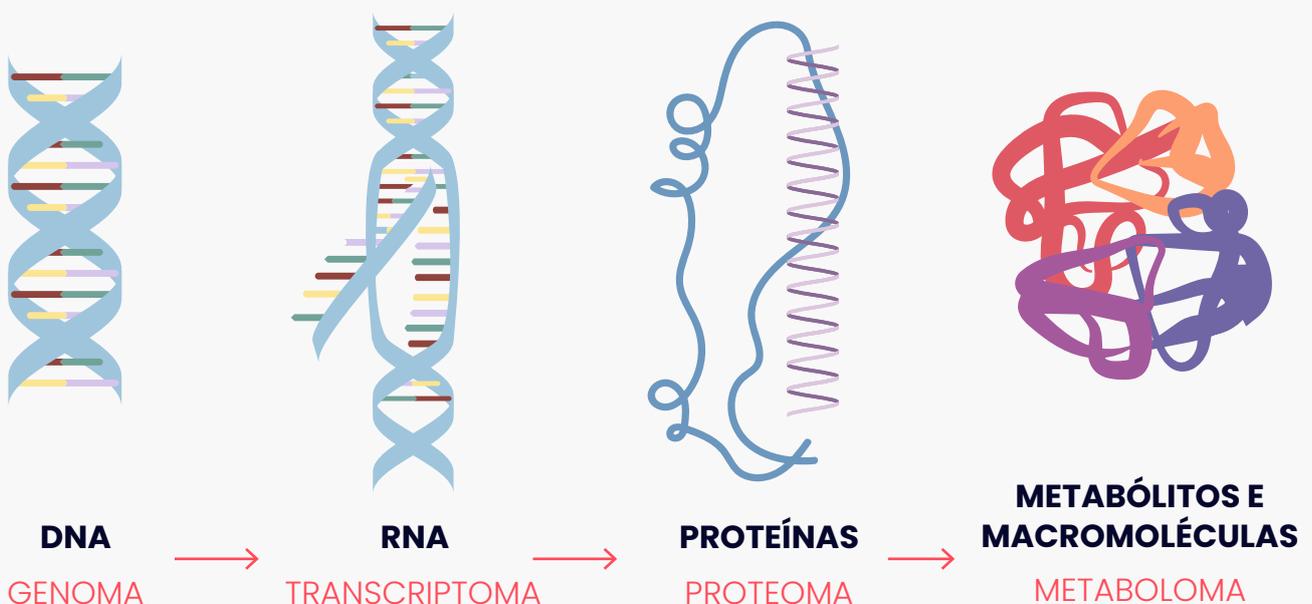
Doenças ou fatores ambientais, como dieta, medicamentos e produtos químicos, podem afetar a forma como os metabólitos são produzidos e usados no corpo.

A metabolômica pode ajudar a encontrar novas maneiras de diagnosticar e tratar doenças. É uma ciência capaz de prever doenças.

• GENOMA/TRANSCRITOMA

É uma coleção de todas as leituras de genes presentes nas células

O genoma humano é composto de DNA que contém as instruções necessárias para fazer e manter as células. Essas instruções são apresentadas na forma de “pares de bases” de quatro substâncias químicas diferentes, organizadas em 20.000 a 25.000 genes. Para que as instruções sejam cumpridas, o DNA “deve ser lido” e “transcrito” criando o RNA. Essas leituras de genes são chamadas de transcritos, e um transcriptoma é uma coleção de todas as leituras presentes em uma célula.



O mais importante é o RNA mensageiro, que desempenha um papel vital na produção de proteínas. Os transcritos do mRNA são entregues aos ribossomos que leem ou traduzem a sequência de letras químicas no mRNA e montam aminoácidos para formar proteínas.

Uma sequência de RNA é um reflexo da sequência de DNA da qual foi transcrita. Portanto, analisando toda a coleção de sequências de RNA em uma célula (o transcriptoma), os pesquisadores podem determinar quando e onde cada gene é ativado ou desativado nas células e tecidos do corpo.

Ao obter e comparar os transcriptomas de diferentes tipos de células, os pesquisadores podem obter uma compreensão mais profunda do que constitui um tipo específico de célula, como ela funciona normalmente e como as mudanças no nível normal de atividade genética podem afetar ou contribuir para a doença.





ATUALIDADE
EM SAÚDE
ASSOCIAÇÃO DE LABORATÓRIOS DE DIAGNÓSTICO
DA AMÉRICA LATINA