

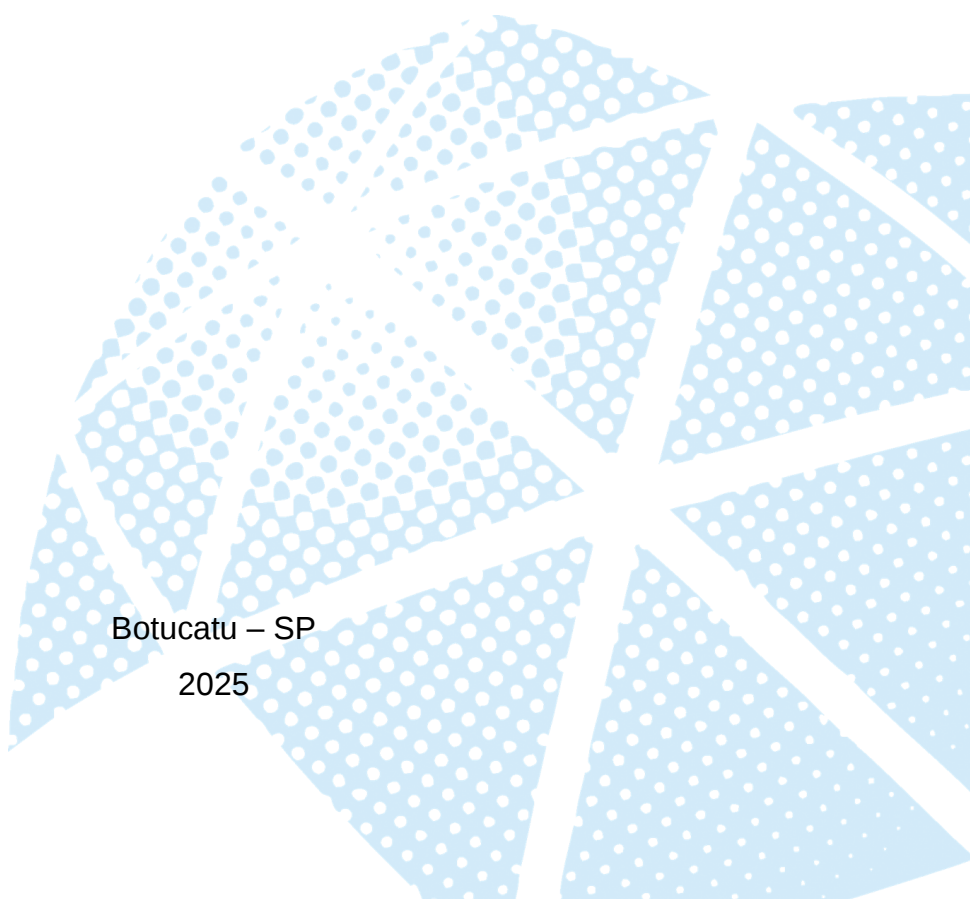
**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

MARIA LUIZA MACIEL DE MENDONÇA

**AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE CORTISOL EM CÃES EM
SEPSE**

Botucatu – SP

2025



MARIA LUIZA MACIEL DE MENDONÇA

**AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE CORTISOL EM CÃES EM
SEPSE**

Dissertação apresentada à
Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia, Botucatu-
SP, junto ao Programa de Pós-
Graduação em Medicina Veterinária
para obtenção do título de Mestre em
Medicina Veterinária.

Área de Concentração: Clínica
Veterinária

Orientador: Prof. Dr. Paulo
Fernandes Marcusso.

Botucatu – SP

2025

Mendonça, Maria Luiza Maciel de
M539 Avaliação da Concentração Sérica de Cortisol em Cães em Seps
/ Maria Luiza Maciel de Mendonça. -- , 2025
58 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu,
Orientador: Prof. Dr. Paulo Fernandes Marcusso

1. Inflamação. 2. Infecção. 3. Diagnóstico. 4.
Glicocorticoides.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Esta pesquisa, ao avaliar a concentração sérica de cortisol em cães em sepse, busca identificar novos biomarcadores que auxiliem no prognóstico dessa síndrome, visto que, nessa condição, a concentração de cortisol pode estar diretamente relacionada a desfechos clínicos negativos. Exames que forneçam resultados mais precisos podem melhorar o manejo clínico, permitindo intervenções rápidas e o estabelecimento de terapias precoces, aumentando, assim, as chances de sobrevivência dos animais, já que a sepse apresenta altas taxas de mortalidade. Além disso, ao garantir uma assistência adequada, a pesquisa fortalece o vínculo entre tutores e animais, reduzindo o impacto emocional e econômico associado à perda de um animal.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This study, by evaluating serum cortisol concentrations in dogs with sepsis, seeks to identify new biomarkers that help in the prognosis of the syndrome, since, in this condition, cortisol concentrations can be directly related to negative clinical outcomes. Tests that provide more accurate results can improve clinical management, allowing for rapid interventions and the establishment of early therapies, thus increasing the animals' chances of survival, since sepsis has high mortality rates. In addition, by ensuring adequate care, the study strengthens the bond between guardians and animals, reducing the emotional and economic impact associated with the loss of an animal.

MARIA LUIZA MACIEL DE MENDONÇA

**AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE CORTISOL EM CÃES EM
SEPSE**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu-SP, junto ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Área de Concentração: Clínica Veterinária

Data da defesa: 20/01/2025

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Paulo Fernandes Marcusso
UNESP - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Campus de Botucatu

Prof. Dr. Ricardo Andres Ramirez Uscategui
Universidad del Tolima – Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Profa. Dra. Beatriz Gasser
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado a todos os animais que lutaram por suas vidas, enfrentando o árduo diagnóstico que a sepse representa, principalmente aos cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” do Campus de Botucatu, que contribuíram diretamente para a realização do presente estudo. Espero que essa pesquisa possa contribuir para o conhecimento cada vez mais aprofundado dessa condição, e, portanto, ajudar todos os profissionais da saúde. Além disso, que seja um incentivo a outros pesquisadores brasileiros, e que no futuro possamos compreender os mecanismos ainda desconhecidos da sepse, que é uma condição de suma importância tanto para os seres humanos quanto para os animais.

AGRADECIMENTOS

Não teria como começar meus agradecimentos senão primeiramente a Deus, a grande força da imensidão do Universo. Muito obrigada por guiar meus passos para o caminho certo, apesar de algumas vezes eu não acreditar em mim ou na minha capacidade de enfrentar uma nova situação.

A minha família, meu pai Emídio e minha mãe Átila, que mesmo a uma distância de mais de 3 mil quilômetros, sempre apoiaram minhas escolhas e desde minha infância fizeram de tudo para me proporcionar a melhor criação. Para minha falecida avó, Mirtes, que além de agradecer, também peço desculpas por limitar o nosso tempo juntas em consequência da minha escolha de mudar de estado para seguir meus sonhos.

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Fernandes Marcusso, muito obrigada por me aceitar como orientanda de mestrado, sem saber, o senhor realizou um grande sonho que eu tinha, que era fazer mestrado na Unesp de Botucatu. Não há palavras para descrever o quão bom orientador o senhor é.

A todos que me ajudaram e contribuíram de alguma forma no processo de realização do meu mestrado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
APPLE	<i>Acute Patient Physiologic and Laboratory Evaluation</i>
AUC	Área sob a curva
CIRCI	<i>Critical illness-related corticosteroid insufficiency</i>
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
ESICM	<i>European Society of Intensive Care Medicine</i>
FIA	<i>Fluorescence Immunoassay</i>
GC	Grupo sepse
GS	Grupo controle
HPA	Hipotálamo-hipófise-adrenal
IA	Insuficiência adrenal
IC	Intervalo de confiança
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
LqSOFA	<i>Lactate Quick Sequential Organ Failure Assessment</i>
PAS	Pressão arterial sistólica
qSOFA	<i>Quick Sequential Organ Failure Assessment</i>
RAI	<i>Relative adrenal insufficiency</i>
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
SCCM	<i>Society of Critical Care Medicine</i>
SIRS	<i>Systemic Inflammatory Response Syndrome</i>
SOFA	<i>Sequential Organ Failure Assessment</i>
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
U.I.	Unidades Internacionais
UTI	Unidade de terapia intensiva

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Critérios SIRS para espécie canina

20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Escala SOFA adaptada para espécie canina	22
Tabela 2 – Escala de pontuação qSOFA para humanos	22
Tabela 3 – Escala de coma de Glasgow modificada para cães	31
Tabela 4 – Distribuição dos cães diagnosticados com sepse pelos critérios SIRS de acordo com a etiologia e com confirmação da infecção por cultivo microbiológico, RT-PCR ou Análise de Efusão	37
Tabela 5 – Distribuição dos cães diagnosticados com sepse pelos critérios SIRS de acordo com a etiologia e sem isolamento microbiológico	37
Tabela 6 – Principais agentes etiológicos identificados em cães diagnosticados com sepse pelos critérios SIRS	38
Tabela 7 – Principais parâmetros alterados em cães com SIRS	38
Tabela 8 – Principais disfunções orgânicas observadas em cães com SOFA positivo	42
Tabela 9 – Pontuações médias das escalas de avaliação de cães em sepse	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Aplicação dos critérios clínicos para identificação de pacientes com sepse e choque séptico conforme o consenso Sepsis-3:	18
Figura 2 – Representação esquemática da sepse conforme definido pelo Sepsis-3	20
Figura 3 – Escala APPLEfast para cães:	24
Figura 4 – Escala APPLEfull para cães:	24
Figura 5 – Eixo HPA em resposta ao estresse	25
Figura 6 – Analisador de gases sanguíneos ABL9 - Radiometer®	33
Figura 7 – Analisador Vcheck V-200 (ECO Diagnóstica®)	34
Figura 8 – Insumos para realização do teste	35
Figura 9 – Distribuição da concentração sérica de cortisol em cães saudáveis, em sepse e choque séptico	40
Figura 10 – Cortisol como biomarcador de sepse, mortalidade e sobrevivência	41
Figura 11 – Capacidade discriminatória dos escores clínicos e laboratoriais em prever a mortalidade de cães sépticos	43
Figura 12 – Correlações: cortisol com diferentes escalas clínicas e laboratoriais (SIRS, qSOFA, LqSOFA, SOFA, APPLEfull e APPLEfast).	44

SUMÁRIO

RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	15
1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 Impactos da sepse na saúde humana e animal.....	17
2.2 Definições de sepse	18
2.2.1 Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica – SIRS	19
2.2.2 Choque Séptico	20
2.3 Sistemas de pontuação para avaliação da sepse.....	21
2.3.1 <i>Sequential Organ Failure Assessment</i> – SOFA.....	21
2.3.2 <i>Quick Sequential Organ Failure Assessment</i> – qSOFA.....	22
2.3.3 <i>Lactate Quick Sequential Organ Failure Assessment</i> – LqSOFA.....	23
2.3.4 <i>Acute Patient Physiologic and Laboratory Evaluation</i> – APPLE	23
2.4 O papel do eixo HPA e do cortisol durante a sepse	25
2.5 Avaliação do cortisol durante a sepse	26
2.5.1 Insuficiência corticosteroide relacionada à doença crítica - CIRCI	27
2.5.2 Concentração de cortisol como marcador prognóstico.....	28
3. OBJETIVOS.....	29
3.1 Objetivo geral.....	29
3.2 Objetivos específicos.....	29
4. MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1 Ética.....	29
4.2 Animais.....	30
4.3 Avaliações clínicas e laboratoriais	32
4.3.1 Coleta e realização de exames laboratoriais	32
4.3.2 Hemograma.....	33
4.3.3 Hemogasometria	33
4.3.4 Análises Bioquímicas	34
4.3.5 Imunoensaio Fluorescente (FIA) – Cortisol	34
4.4 Análises estatísticas	35
5. RESULTADOS.....	36
5.1 Avaliação da concentração sérica de cortisol	39
5.2 Escalas qSOFA, LqSOFA, SOFA, APPLEfull, APPLEfast e lactato	41

5.2.1 Escalas diagnósticas e mortalidade	42
5.3 Relação entre cortisol e escalas de avaliação da sepse	44
6. DISCUSSÃO.....	45
7. CONCLUSÕES.....	50
8. BIBLIOGRAFIA.....	50

MENDONÇA, M.L.M. **Avaliação da Concentração Sérica de Cortisol em Cães em Sepse**. Botucatu, 2025. 58. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

RESUMO

A sepse é uma síndrome que culmina em disfunções orgânicas, devido a sua gravidade representa uma das principais causas de mortalidade em todo o mundo. Nessa condição, a concentração de cortisol pode se elevar além dos níveis fisiológicos como uma resposta adaptativa ao estresse. Estudos com humanos, demonstram o aumento das concentrações de cortisol sérico relacionado com maior gravidade da doença. Sabendo disso, o presente estudo teve como objetivos avaliar a concentração sérica de cortisol em cães com sepse e determinar sua relevância como biomarcador, avaliar escalas SIRS, qSOFA, LqSOFA, SOFA, APPLEfull e fast em relação a predição de mortalidade e as correlacionar com a concentração de cortisol. Para tanto, 42 animais oriundos do Hospital Veterinário da FMVZ, UNESP/Botucatu, foram incluídos no estudo, sendo classificados conforme o estado clínico: saudáveis ou grupo controle (GC; n = 11) e com suspeita ou sepse confirmada (GS; n = 31). De 31 cães em sepse, 15 vieram a óbito e 16 receberam alta hospitalar. Os resultados indicaram que o valor de cortisol em cães em sepse foi maior, portanto, foi um biomarcador útil para diferenciar cães saudáveis daqueles com sepse, além de ser eficaz na predição do prognóstico. Entre as escalas avaliadas, a SOFA demonstrou a melhor capacidade discriminatória para mortalidade, destacando-se como uma ferramenta relevante na avaliação da gravidade da disfunção orgânica. A associação do cortisol com essa e outras escalas, como APPLEfast e full, pode aprimorar sua utilidade prognóstica e fortalecer sua aplicação na prática clínica.

Palavras-chave: inflamação, infecção, diagnóstico, glicocorticoides.

MENDONÇA, M.L.M. **Evaluation of Serum Cortisol Concentration in Dogs with Sepsis**. Botucatu, 2025. 58. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

ABSTRACT

Sepsis is a syndrome that leads to organ dysfunction and, due to its severity, is one of the leading causes of mortality worldwide. In this condition, cortisol levels may rise beyond physiological thresholds as an adaptive response to stress. Studies in humans have shown that increased serum cortisol concentrations are associated with greater disease severity. Given this, the present study aimed to evaluate serum cortisol levels in dogs with sepsis and determine its relevance as a biomarker, assess the predictive value of the SIRS, qSOFA, LqSOFA, SOFA, APPLEfull, and APPLEfast scales for mortality, and correlate them with cortisol concentration. A total of 42 animals from the Veterinary Hospital of FMVZ, UNESP/Botucatu, were included in the study and classified according to clinical status: healthy or control group (CG; n = 11) and suspected or confirmed sepsis group (SG; n = 31). Among the 31 dogs with sepsis, 15 died, and 16 were discharged from the hospital. The results indicated that cortisol levels were higher in dogs with sepsis, making it a useful biomarker for distinguishing healthy dogs from those with sepsis, as well as being effective in predicting prognosis. Among the evaluated scales, SOFA demonstrated the best discriminatory capacity for mortality, proving to be a relevant tool in assessing the severity of organ dysfunction. The combination of cortisol with this and other scales, such as APPLEfast and APPLEfull, may enhance its prognostic utility and strengthen its clinical application.

Keywords: inflammation, infection, diagnosis, glucocorticoids

1. INTRODUÇÃO

A sepse, caracterizada por ser uma síndrome de anormalidades fisiológicas, patológicas e bioquímicas induzidas por infecção, representa um grande desafio para a saúde pública. Em 2011, gastos hospitalares relacionados a síndrome em questão ultrapassaram US\$ 20 bilhões, valor correspondente a 5,2% dos custos totais em saúde dos Estados Unidos (SINGER et al., 2016). A Assembleia Mundial da Saúde (AMS) e a Organização Mundial da Saúde (OMS), estabeleceram a sepse como uma prioridade global de saúde em 2017 (CECCONI et al., 2018).

Durante a sepse, o estímulo do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e posteriormente a síntese de glicocorticoide adrenocortical, são mecanismos regulatórios fundamentais para manter a homeostase do organismo (VANDEWALLE e LIBERT, 2020). A concentração de cortisol, durante a síndrome em questão, pode aumentar em relação aos níveis fisiológicos devido a adaptação ao estresse (TOLIBIN, WIDIRETNANI e MOELYO, 2023). Diversos estudos demonstram a importância de glicocorticoides endógenos em relação a tolerância à sepse, pelo fato de amenizarem mecanismos dessa síndrome, como inflamação excessiva, falhas vasculares e hipoglicemia (VANDEWALLE e LIBERT, 2020).

Em um estudo realizado por Jericó e colaboradores (2020), um número significativo de cães com doença grave, especialmente caninos em sepse, demonstraram sinais de resposta corticosteroide inapropriada frente ao estresse, indicando uma possível insuficiência corticosteroide relacionada a doença crítica. Já Yuki e colaboradores (2019), citam que em estudos recentes com humanos, observou-se o aumento das concentrações de cortisol sérico relacionado com maior gravidade da doença. Além da correlação positiva entre aumento de cortisol e a mortalidade, definiram a concentração de cortisol como um útil marcador prognóstico.

Avaliar a concentração sérica de cortisol em cães sépticos é testar a sua capacidade como um marcador de estresse para auxiliar o prognóstico dessa síndrome. Por tais motivos, considera-se relevante para a ciência médica estudos que possibilitem a melhor compreensão das alterações metabólicas em pacientes com sepse espontânea e, conseqüentemente, melhorem a abordagem terapêutica e o prognóstico dos pacientes.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Impactos da sepse na saúde humana e animal

Em pacientes internados em unidades de terapia intensiva (UTI), a sepse representa a causa mais importante de mortalidade, com impacto significativo nos custos da assistência à saúde em todo o mundo (FLEISHCHMANN et al., 2016; ZINGARELLI et al., 2019). Este cenário ainda se faz atual, apesar dos avanços na prestação de serviços de suporte a saúde, uso criterioso de terapia antimicrobiana e mudanças epidemiológicas globais (RAGHUNATHAN et al., 2019). Mundialmente, estimativas apontam que mais de 30 milhões de pacientes humanos são diagnosticados com sepse e cerca 5 milhões vêm a óbito (TILLMANN e WUNSCH, 2018; MONTEALEGRE e LYONS, 2021).

Em um estudo realizado por Machado e colaboradores (2017), é relatado que pacientes em sepse e choque séptico ocupam um terço dos leitos de UTI no Brasil, com uma letalidade global de 55%. Além da taxa de letalidade apresentada, a prevalência da sepse em território nacional chega a 30%, logo é possível afirmar que a síndrome em questão, caracteriza-se como a principal causa de morte em UTIs não cardiológicas (ALMEIDA et al., 2022).

Na Medicina Veterinária, segundo Montealegre e Lyons (2021) é uma condição que está associada a altas taxas de mortalidade em cães e gatos. Comumente, as doenças que podem predispor cães a sepse de forma natural consistem em parvovirose, peritonite, pancreatite, pneumonia, prostatite e piometra (DE LAFORCADE et al., 2003). Ademais, a sepse continua sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade em potros neonatos (WONG et al., 2018).

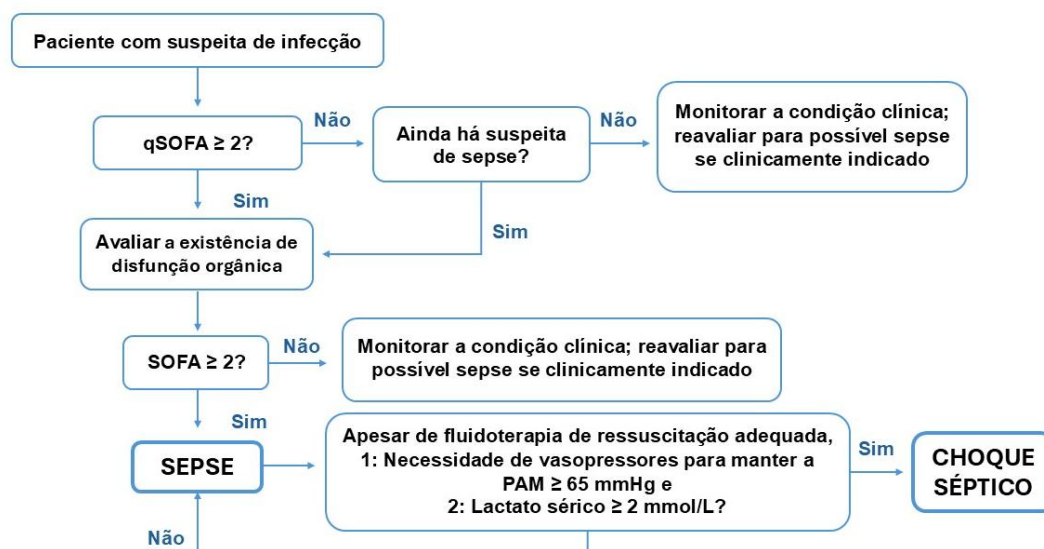
A prevalência e incidência da sepse na Medicina Veterinária ainda não estão devidamente documentadas. Os dados disponíveis demonstram que, em cães, as taxas de mortalidade relacionadas a peritonite séptica variam de 21 a 68%, aumentando para 70% em cães que apresentam falência de órgãos (MONTEALEGRE e LYONS, 2021). Já Goggs e colaboradores (2022), citam que cães sépticos com pneumonia, peritonite e piometra demonstram uma taxa de mortalidade que pode variar entre 30 e 64%.

2.2 Definições de sepse

Originalmente foi considerada uma resposta sistêmica à infecção bacteriana, porém é estabelecido que outros agentes infecciosos, como vírus, fungos e parasitas, também podem desencadear esta condição (WARD, 2012). Ademais, uma condição semelhante a sepse pode se desenvolver em uma “infecção estéril”, que causa respostas similares à sepse em situações de politrauma grave não penetrante (como múltiplas fraturas ósseas e lesão em tecido mole), lesão por isquemia-perfusão e choque hemorrágico (CHEN e NUNEZ, 2010; WARD, 2012).

A definição de sepse ao longo dos anos passou por diversas modificações. Após as conferências de 2014 e 2015, o consenso Sepsis-3 foi estabelecido, e esta síndrome passou ser definida como uma disfunção orgânica com risco de morte causada por uma resposta desregulada do organismo à infecção, que normalmente progride para hipoperfusão de órgãos e morte dentro de horas ou dias quando não tratada (SINGER et al., 2016; RAGHUNATHAN et al., 2019; ZINGARELLI et al., 2019).

Figura 1 – Aplicação dos critérios clínicos para identificação de pacientes com sepse e choque séptico conforme o consenso Sepse-3:



Fonte: Adaptado de Singer e colaboradores (2016).

Para auxiliar a identificação de disfunção orgânica em pacientes sépticos, foi recomendado o uso da escala de pontuação *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA), desenvolvida em 1994 pela ESICM (*European Society of Intensive Care*

Medicine) (SINGER et al., 2016). A escala SOFA, avalia a disfunção orgânica por meio do sistema respiratório, da coagulação, do sistema hepático, do sistema cardiovascular, do sistema nervoso central e do sistema renal (LAMB DEN et al., 2019; MORENO et al., 2023). Outra escala foi sugerida para realizar a triagem dos pacientes potencialmente em sepse, o qSOFA, discutido posteriormente (SINGER et al., 2016).

Em 2021, a ESICM e SCCM (*Society of Critical Care Medicine*) recomendaram uma série de diretrizes atualizadas sobre sepse. Uma das recomendações era sobre o uso de escalas diagnósticas (EVANS et al., 2021). A diretriz enfatizou que o uso do qSOFA como única ferramenta de triagem da sepse não deve ser realizado, já que é menos sensível do que a escala SIRS para identificar disfunção orgânica induzida por infecção nos estágios iniciais, conforme descrito por Fernando e colaboradores (2018). Estudos indicam que, apesar de 70% dos pacientes com escores qSOFA elevados apresentarem desfechos negativos, inicialmente apenas 24% dos infectados pontuam 2 ou 3 na escala (SEYMOUR et al., 2016).

Na Medicina Veterinária, ainda não existe nenhum consenso oficial a respeito de como diagnosticar a sepse, além de uma definição padronizada para animais. A maioria das publicações mundiais para diagnosticar a sepse em animais, são fundamentadas em critérios derivados dos consensos para humanos de 1992 e 2003 (CORTELLINI et al., 2024).

2.2.1 Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica – SIRS

A síndrome da resposta inflamatória sistêmica (*Systemic Inflammatory Response Syndrome* - SIRS) representa uma resposta sistêmica do organismo a uma doença infecciosa ou não infecciosa, em que há liberação exacerbada de mediadores inflamatórios (YAZLIK et al., 2022). Embora esta resposta seja defensiva, a tempestade de citocinas desreguladas pode causar uma cascata inflamatória maciça, levando à disfunção reversível ou irreversível de órgãos e até mesmo à morte (CHAKRABORTY e BURNS, 2019).

Os critérios estabelecidos para o diagnóstico de SIRS em humanos foram adaptados para o uso em cães (YAZLIK et al., 2022). A SIRS é considerada positiva quando um cão apresenta pelo menos 2 dos 4 critérios observados no Quadro 1 (ALVES et al., 2020).

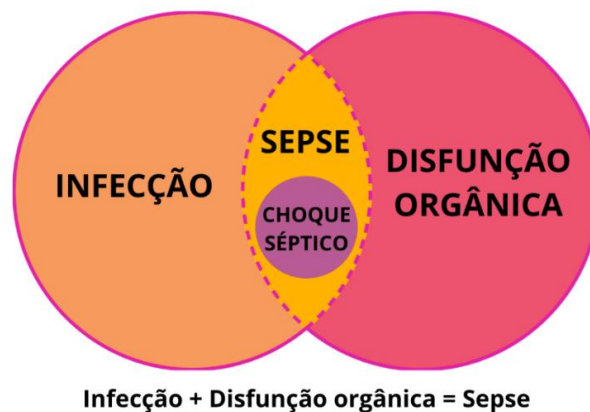
Quadro 1 – Critérios SIRS para espécie canina

Parâmetro	Alteração
Temperatura	< 38°C ou > 39,2°C
Frequência cardíaca	> 120 bpm
Frequência respiratória	> 20 rpm
Leucócitos ($\times 10^3$) ou neutrófilos bastonetes (%)	< 6.000 ou > 16.000 ou > 3%

Fonte: De Laforcade (2009); Silverstein e Sanotero-beer (2012).

2.2.2 Choque Séptico

É definido como um subconjunto de sepse, em que anormalidades circulatórias, celulares e metabólicas subjacentes são graves o suficiente para aumentar significativamente a mortalidade (SINGER et al., 2016). Clinicamente o choque séptico é reconhecido pela necessidade de vasopressores para manter a normotensão não responsiva a administração de fluídos intravenosos ou por um lactato sérico > 2 mmol/L, apesar da ressuscitação adequada de fluídos (SINGER et al., 2016; MONTEALEGRE e LYONS, 2021).

Figura 2 – Representação esquemática da sepse conforme definido pelo Sepsis-3

Fonte: Adaptado de Cortellini e colaboradores (2024).

Em cães, esta condição é caracterizada por uma hipotensão associada à sepse não responsiva à expansão do volume intravascular, ou seja, pressão arterial sistólica < 90 mmHg ou pressão arterial média < 70 mmHg, que é responsiva somente pelo uso de vasopressores (ALVES et al., 2020).

2.3 Sistemas de pontuação para avaliação da sepse

A identificação precoce da sepse e a avaliação do nível de gravidade são imprescindíveis para evitar o desenvolvimento de choque séptico e diminuir as taxas de mortalidade (BATAGLIA et al., 2021). Nesse sentido, os sistemas de pontuação desempenham um papel crucial ao mensurar a gravidade de pacientes em estado crítico, fundamentando-se em variáveis anatômicas, fisiológicas e bioquímicas para categorizá-los em grupos de risco específicos (SEKULIC et al., 2015).

2.3.1 *Sequential Organ Failure Assessment* – SOFA

Após uma reunião de consenso em 1994 foi desenvolvida a escala SOFA, com o objetivo de criar uma pontuação para descrever de forma quantitativa e objetiva o grau de disfunção de órgão ao longo do tempo em grupos de pacientes ou mesmo pacientes individuais (LAMB DEN et al., 2019). O esquema de pontuação atribui de 0 a 4 pontos a cada um dos seis sistemas de órgãos representados na Tabela 1 (RIPANTI et al., 2012; LAMB DEN et al., 2019). Após o desenvolvimento de novas definições, tornou-se amplamente utilizada e recomendada como um critério-chave no diagnóstico da sepse em nível de paciente individual (SEYMOUR et al., 2016).

Conforme apontado por Singer e colaboradores (2016), uma pontuação SOFA igual ou superior a 2 pontos sinaliza a presença de disfunção orgânica em pacientes sépticos, além de estar associada aproximadamente a um aumento de 10% na taxa de mortalidade. Evans e colaboradores (2021) ressaltam que apesar da escala SOFA oferecer uma avaliação mais direta em relação a disfunção orgânica associada a sepse, sua sensibilidade pode variar dependendo do contexto clínico, já que os parâmetros avaliados na escala podem ser tardios.

Na Medicina Veterinária, especificamente para a espécie canina, a escala SOFA foi adaptada por Ripanti e colaboradores (2012) (Tabela 1), entretanto esta adaptação ainda não teve seu uso validado para avaliar a disfunção orgânica em cães.

Tabela 1 – Escala SOFA adaptada para a espécie canina

Sistema orgânico e parâmetro	Escala SOFA – Pontuação				
	0	1	2	3	4
Respiração PaO ₂ /FiO ₂ (mmHg)	>400	≤400	≤300	≤200 [#]	≤100 [#]
Coagulação Plaquetas (x10 ³ /μl)	>150	≤150	≤100	≤50	≤20
Fígado Bilirrubina total (mg/dl)	<0,6	0,6-1,4	1,5-5,0	5,1-11	>11,1
Cardiovascular PAM (mmHg)	PAM>65	nore≤0,1	nore>0,1	nore>0,1 + epi ou vaso	nore>0,1 + epi ou vaso + dobu
SNC Escore de coma Glasgow	15	13-14	10-12	6-9	<6
Renal Creatinina (mg/dl)	<1,4	1,4-1,9	2,0-3,4	3,5-4,9	>5,0

[#]Com suporte respiratório. PAM=pressão arterial média e quando <65 mmHg, nore=norepinefrina, epi=epinefrina, dobu=dobutamina, vaso=vasopressina, agentes vasopressores ou inotrópicos administrados pelo menos uma hora (doses em mg/kg/minuto).

Fonte: Adaptado de Ripanti e colaboradores (2012).

2.3.2 Quick Sequential Organ Failure Assessment – qSOFA

Uma nova ferramenta, nomeada *Quick Sequential Organ Failure Assessment* (qSOFA), foi sugerida no consenso de 2016 para avaliação de pacientes com suspeita de sepse, com base na escala SOFA (SINGER et al., 2016). Reconhecendo que a SOFA é raramente aplicada fora do ambiente de terapia intensiva, o consenso, propôs uma combinação mais simplificada de parâmetros clínicos para prever os mesmos resultados em pacientes sendo avaliados em outros ambientes, com base na frequência respiratória, estado mental e pressão arterial sistólica (SIMPSON, 2018).

Tabela 2 – Escala de pontuação qSOFA para humanos

Crítérios	Alteração	Pontuação
Frequência respiratória	≥ 22 mpm	1
Estado mental	Alterado	1
Pressão arterial sistólica	≤ 100 mmHg	1

Fonte: Adaptado de Montealegre e Lyons (2021) e Singer e colaboradores (2016).

Os estudos sobre o uso do qSOFA na Medicina Veterinária demonstram resultados contraditórios. Por exemplo, Donati e colaboradores (2022) observaram que, em cadelas com piometra, um escore qSOFA a partir de 2 pontos estava relacionado a um aumento de mortalidade hospitalar e a um maior tempo de internação entre pacientes que sobreviveram. Contudo, os achados de Osgood, Hollenbeck e Yankin (2022), que investigaram cães com sepse e choque séptico por diversas causas espontâneas, descreveram que a mesma pontuação supracita não apresentou relação entre cães sobreviventes e não sobreviventes com sepse e choque séptico.

2.3.3 *Lactate Quick Sequential Organ Failure Assessment – LqSOFA*

Na Medicina, diversos estudos sugerem que a avaliação rápida sequencial de falência de órgãos com lactato (LqSOFA) é uma ferramenta valiosa e rápida para prever a mortalidade em pacientes com sepse. Esse critério de avaliação combina o lactato à beira do leito e o qSOFA visto anteriormente (LIU et al., 2020). O estudo conduzido por Shetty e colaboradores (2017) analisou 12.555 casos de pacientes em sepse e demonstrou que a inclusão do limiar de lactato ≥ 2 mmol/L como um ponto adicional no cálculo da pontuação LqSOFA aumenta a sensibilidade para 65,5% na identificação de desfechos adversos em pacientes com sepse.

Em um estudo, Ortolani e Bellis (2021) investigaram aplicabilidade do qSOFA e do LqSOFA como ferramentas de triagem para prever mortalidade em cães internados em UTI por diversas doenças críticas. Dependendo do nível de lactato, um ponto adicional era atribuído ao escore apenas se o valor ultrapassasse os limites definidos: >2 mmol/L (L2qSOFA), >3 mmol/L (L3qSOFA), >4 mmol/L (L4qSOFA) ou >5 mmol/L (L5qSOFA). Esse ponto adicional não foi acumulativo entre os níveis. Os resultados demonstraram que a adição de lactato aumentou levemente o valor preditivo do qSOFA em níveis mais altos de lactato (L3qSOFA, L4qSOFA e L5qSOFA).

2.3.4 *Acute Patient Physiologic and Laboratory Evaluation – APPLE*

Um sistema de pontuação, denominado APPLE (*Acute Patient Physiologic and Laboratory Evaluation*), foi desenvolvido por Hayes e colaboradores (2010) com

objetivo de estratificar a gravidade da doença em cães e prever o risco de mortalidade, independentemente do diagnóstico primário. Nesse estudo foram propostos dois modelos de avaliação, sendo representados por APPLEfull e APPLEfast.

Figura 3 – Escala APPLEfast para cães:

7 <84	8 84-102	9 103-164	10 165-273	glucose (mg/dL) >273	
8 <2.6	7 2.6-3.0	6 3.1-3.2		albumin (g/dL) 3.3-3.5	2 >3.5
				lactate (mg/dL) <18.0	4 18.0-72.1
					8 72.2-90.1
					12 >90.1
5 <151	6 151-200	3 201-260		platelet count (x10 ⁹ /L) 261-420,000	1 >420
				mentation score 0	4 1
					6 2
					7 3
					14 4

Legenda: Um valor de 0 pontos é obtido para cada parâmetro na zona central. Fonte: Hayes e colaboradores (2010).

Figura 4 – Escala APPLEfull para cães:

				creatinine (mg/dL) 0-0.62	1 0.63-1.35	8 1.36-2.26	9 >2.26
		9 <5.1		wbc (x10 ⁹ /l) 5.1-8.5	2 8.6-18	3 >18	
6 <2.6	7 2.6-3.0	9 3.1-3.2		albumin (g/dL) 3.3-3.5	2 >3.5		
10 <90	4 90-94	1 95-97		SpO ₂ (%) 98-100			
				total bilirubin (mg/dL) 0-0.23	6 0.24-0.46	4 0.47-0.93	3 >0.93
				mentation score 0	5 1	7 2	8 3
							13 4
				respiratory rate (bpm) <25	3 25-36	5 37-48	6 49-60
							5 >60
				age (years) 0-2	6 3-5	8 6-8	7 >8
3 2	4 1			fluid score 0			
				lactate (mg/dL) <18.0	2 18.0-71.2	3 71.3-90.1	6 >90.1

Legenda: Um valor de 0 pontos é obtido para cada parâmetro na zona central. Fonte: Hayes e colaboradores (2010).

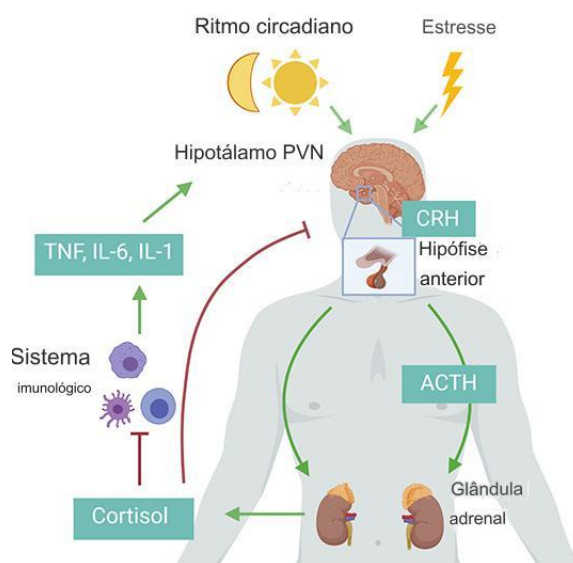
O APPLEfast é composto por 5 variáveis para maior praticidade e rapidez no uso clínico, já o APPLEfull apresenta 10 variáveis para maior precisão. Os dois modelos propostos foram validados, a escala mais simples apresentou uma leve perda de precisão em comparação com o APPLEfull, que demonstrou maior acurácia para prever mortalidade e classificar a gravidade da doença, principalmente para casos mais complexos (HAYES et al., 2010). Ambos os sistemas de pontuação não

apresentam um valor de corte para caracterizar se o paciente avaliado é positivo ou negativo na escala, contudo, pontuações mais altas indicaram maior gravidade da doença e maior probabilidade de mortalidade.

2.4 O papel do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e do cortisol durante a sepse

O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, responsável pela homeostase do organismo, é prontamente ativado em situações de estresse, como, doenças graves, traumas, anestesia e cirurgias. Nesse contexto, pode ser observado um aumento na concentração sérica de cortisol, refletindo a adaptação do organismo frente ao estresse (LINCK et al., 2011; JERICÓ et al., 2020).

Figura 5 – Eixo HPA em resposta ao estresse:



Legenda: Glicocorticoides regulam negativamente a atividade do eixo HPA por meio do núcleo paraventricular (PVN) do hipotálamo e da hipófise anterior, ou indiretamente, diminuindo a expressão de citocinas inflamatórias. Fonte: Adaptado de Vandewalle e Libert (2020).

As glândulas suprarrenais secretam cortisol em um ritmo circadiano e em concentrações aumentadas em momentos de estresse ou doença (CREEDON, 2015). Durante a sepse, o organismo ativa o sistema de resposta ao estresse mediante a liberação de citocinas pró-inflamatórias, que atuam diretamente sobre o hipotálamo,

induzindo a síntese do hormônio liberador de corticotrofina (CRH). Esse processo subsequente estimula a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela hipófise (GAYDOU, BERTUZZI e MORETTI, 2009). O ACTH, por sua vez, aumenta a liberação de cortisol pelo córtex da glândula adrenal (ZHANG et al., 2014). O cortisol, por um mecanismo de retroalimentação negativa, leva à diminuição da liberação de CRH e ACTH e, portanto, à diminuição da sua própria produção e liberação (CREEDON, 2015).

É demonstrada a ação de diversas citocinas na atividade secretora do eixo HPA, contudo, os principais imunoestimuladores que aumentam a secreção de CRH e ACTH durante a inflamação, consistem na interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (WASYLUK, MARTYNA e ZWOLAK, 2021). A resposta do eixo HPA perante a inflamação e ao estresse sistêmico é bifásica, ou seja, na fase aguda há o aumento da secreção de ACTH, já no período crônico, este hormônio encontra-se em baixas concentrações (ANNANE et al., 2017).

Os glicocorticoides, incluindo o cortisol endógeno, são responsáveis por efeitos predominantemente anti-inflamatórios e imunossupressores (ANNANE, 2016). Reduzem a produção e a atividade de células inflamatórias, além de promover a redistribuição dessas células para outros compartimentos do organismo, assim diminuindo a quantidade de células imunes circulantes em geral (FREDRICK et al., 2024).

2.5 Avaliação do cortisol durante a sepse

É relatado que níveis significativamente mais baixos ou mais altos de cortisol sérico total está diretamente relacionado com prognóstico do paciente crítico. Nesse cenário, a sepse pode ocasionar grandes mudanças no eixo HPA, o que dificulta a avaliação dos pacientes portadores da síndrome em questão (ELBUKEN et al., 2016). Estudos demonstram que em humanos, as concentrações de cortisol sérico aumentam na fase aguda da doença sistêmica (SWALES, BATCHELOR e O'CONNELL, 2020). Todavia, outra condição pode se desenvolver durante a sepse, a insuficiência corticosteroide relacionada à doença crítica (*critical illness-related corticosteroid insufficiency* – CIRCI), anteriormente denominada insuficiência adrenal relativa (*relative adrenal insufficiency* – RAI) (TÉBLICK et al., 2019).

2.5.1 Insuficiência corticosteroide relacionada à doença crítica - CIRCI

A CIRCI é caracterizada por insuficiência adrenal (IA) na qual a disponibilidade sistêmica de cortisol é considerada insuficiente para enfrentar o estresse da doença crítica. Várias condições agudas podem desencadear esta condição, principalmente a sepse e o choque séptico (TÉBLICK et al., 2019). Annane e colaboradores (2017), citam que em humanos conforme a população estudada e os critérios diagnósticos, a CIRCI pode ser estimada em 10 a 20% dos pacientes em estágio grave. Ademais, observou-se que aproximadamente 60% dos indivíduos em choque séptico apresentaram CIRCI (ANNANE et al., 2017; SUMMERS et al., 2021).

As alterações envolvidas na fisiopatologia da CIRCI podem ser delineadas em três grupos principais: desregulação do eixo HPA, metabolismo alterado do cortisol e resistência tecidual aos glicocorticoides (ANNANE et al., 2017; BOAG et al., 2020. WASYLUK, MARTYNA e ZWOLAK, 2021). Durante o choque séptico, o dano ou a inibição do hipotálamo, hipófise e glândulas suprarrenais ocorre por citocinas, espécies reativas de oxigênio, hemorragia e outros eventos deletérios, assim afetando a produção de cortisol (CREEDON, 2015).

O Colégio Americano de Medicina de Cuidados Críticos sugere considerar IA em humanos com cortisol aleatório $<10 \mu\text{g/dl}$. Entretanto, o diagnóstico de CIRCI consiste em um processo intrincado. Embora uma baixa concentração aleatória de cortisol plasmático possa gerar suspeitas, não há diretrizes claras e amplamente aceitas para o diagnóstico definitivo dessa condição (FREDICK et al., 2024). Diversos testes, como níveis basais ou aleatórios de cortisol sérico, valores de cortisol após teste de estimulação com hormônio ACTH (delta cortisol), níveis de cortisol livre, ou uma junção desses exames, foram propostos como testes diagnósticos para CIRCI (ELBUKEN et al., 2016).

Após o diagnóstico preciso, o tratamento recomendado para CIRCI consiste em cuidados médicos intensivos e administração de hidrocortisona. Porém, a dose ideal desse medicamento para controlar efetivamente esta insuficiência e reduzir a mortalidade, permanece incerta (FREDICK et al., 2024). Além disso, o uso de glicocorticoides pode ser problemática, pois está associada a efeitos adversos e, em alguns casos, pode piorar o desfecho clínico. Sabendo disso, o manejo da CIRCI

requer uma avaliação cuidadosa dos benefícios e riscos envolvidos no uso de glicocorticoides (BOAG et al., 2020).

Em relação ao diagnóstico da CIRCI em cães, Jericó e colaboradores (2020) apresentaram resultados positivos com o uso do teste de estimulação com ACTH para avaliar a função adrenal em cães hígidos e doentes. Nesse estudo, cães gravemente enfermos, principalmente em sepse, demonstraram evidências de resposta corticosteroide inadequada frente ao estresse. Creedon (2015) ressalta que cães sépticos com um delta cortisol inferior a 3 g/dL após um teste de estimulação com ACTH, são mais propensos a hipotensão e apresentam sobrevida reduzida em comparação com cães com delta cortisol > 3 g/dL.

Em pacientes caninos é descrito que doses baixas de hidrocortisona pode ser o tratamento de escolha para CIRCI (CREEDON, 2015). Entretanto, em um estudo retrospectivo, que avaliou o uso de hidrocortisona em cães com choque séptico com suspeita de CIRCI em comparação a pacientes com choque séptico sem esta suspeita, não houve diferença significativa na sobrevivência entre os pacientes com choque séptico tratados com hidrocortisona e os não tratados (SUMMERS et al., 2021). Marchetti e colaboradores (2021), realizaram um estudo prospectivo com cães com SIRS e diagnosticados com CIRCI pelo teste de estimulação com ACTH, e assim como no estudo anterior, o tratamento com hidrocortisona em baixas doses não teve impacto na sobrevivência.

2.5.2 Concentração de cortisol como marcador prognóstico

Na Medicina, há evidências conflitantes em relação as alterações na concentração de cortisol e seu valor prognóstico. Os achados clínicos discordam principalmente se o prognóstico reservado está associado a concentrações elevadas ou baixas de cortisol sérico, além de outros estudos evidenciarem a ausência de correção entre concentração de cortisol e o desfecho clínico (SWALES, BATCHELOR e O'CONNELL, 2020). Apesar das controversas, é notável a relação entre sepse e a concentração de cortisol. No estudo de Tolibin, Widiyretnani e Moelyo (2023), foi observada uma associação positiva entre níveis elevados de cortisol e mortalidade em crianças gravemente doentes.

Em cães, alguns estudos demonstram o desempenho do cortisol como marcador prognóstico. Boag e colaboradores (2020), evidenciaram que o cortisol circulante total foi significativamente maior em cães com sepse ou com choque séptico em comparação com grupo de animais saudáveis. Ademais, outro estudo reforçou essa relação, já que a concentração média de cortisol sérico foi maior em cães gravemente enfermos que não sobreviveram à alta hospitalar em comparação com a concentração naqueles que receberam alta (SWALES, BATCHELOR e O'CONNELL, 2020). Visto a relevância do cortisol como biomarcador, estudos que investiguem as alterações metabólicas em pacientes com sepse são de grande importância para Medicina Veterinária.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar a concentração sérica de cortisol em cães com sepse e determinar sua relevância como biomarcador de diagnóstico e prognóstico.

3.2 Objetivos específicos

- Comparar a concentração sérica de cortisol entre cães saudáveis e sépticos;
- Avaliar associações entre valores séricos de cortisol, mortalidade e alta hospitalar em cães diagnosticados com sepse;
- Avaliar os scores das escalas SIRS, SOFA, qSOFA, LqSOFA, APPLEfast e APPLEfull em função da previsão de mortalidade em cães com sepse;
- Correlacionar a concentração de cortisol com escalas diagnósticas SIRS, SOFA, qSOFA, LqSOFA, APPLEfast e APPLEfull.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Ética

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FMVZ-UNESP), Botucatu-São Paulo. Número de protocolo: 0331/2023.

4.2 Animais

Os animais foram oriundos da rotina do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP/Botucatu, Brasil. Para critérios de inclusão no estudo, foram selecionados dois tipos de pacientes, classificados segundo seu estado clínico: saudáveis ou grupo controle e com suspeita ou sepse confirmada. A seleção dos pacientes e coleta de amostras ocorreram do primeiro semestre de 2023 ao segundo semestre de 2024. No total, 42 cães foram incluídos nesse estudo, divididos em 11 caninos para o grupo controle (GC) e 31 cães para o grupo sepse (GS).

Para o GC foram selecionados 11 cães adultos saudáveis voluntários por chamado geral realizado no Hospital Veterinário da FMVZ-UNESP, sendo 6 fêmeas (1 inteira; 5 castradas) e 5 machos (5 castrados), com idade média geral de 6 anos. As raças observadas apresentaram a seguinte distribuição: Dálmata (1), Lhasa Apso (1), Sem Raça Definida (SRD) (7), Terrier Brasileiro (1) e Yorkshire Terrier (1).

Estes pacientes não poderiam apresentar alterações no exame clínico e exames laboratoriais. Sabendo disso, deveriam ter valores normais de hemograma, hemogasometria e análise bioquímica sérica de creatinina, bilirrubina total e direta, ureia, alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), gama glutamil transferase (GGT), glicose, proteína sérica total, albumina, globulina, colesterol, triglicérides segundo os valores e recomendações de Kaneko (1997), Meyer e Harvey (2004) e Thrall e colaboradores (2022). Os critérios de exclusão adotados foram: hipertensão arterial (pressão arterial sistólica – PAS: ≥ 170 mmHg) ou hipotensão (PAS: ≤ 110 mmHg) segundo Tilley e Goodwin (2002), alteração estado mental conforme os critérios de Platt, Radaelli e McDonnell (2001) (Tabela 3), cardiopatias, doença renal, histórico de endocrinopatia ou tratamentos farmacológicos ou cirúrgicos de qualquer tipo nos últimos 15 dias.

Tabela 3 – Escala de coma de Glasgow modificada para cães

		Escore
Nível de Consciência	Animal alerta e responsivo ao ambiente	6
	Depressão ou delírio e responsividade discreta ao meio ambiente	5
	Semicomatoso, responsivo a estímulo visuais	4
	Semicomatoso, responsivo a estímulos sonoros	3
	Semicomatoso, responsivo apenas a estímulos dolorosos	2
	Comatoso, irresponsivo a estímulos dolorosos	1
Atividade Motora	Marcha normal, reflexos espinhais normais	6
	Hemiparesia, tetraparesia	5
	Decúbito, espasticidade intermitente	4
	Decúbito, espasticidade constante	3
	Decúbito, espasticidade com opistótono (Rigidez descerebrada)	2
	Decúbito, hipotonia muscular, reflexos espinhais reduzidos	1
Reflexos do tronco encefálico	Reflexos fotomotor pupilar e oculocefálicos normais	6
	Reflexos fotomotor pupilar diminuído e oculocefálico normal ou reduzido	5
	Miose bilateral irresponsiva e nistagmo fisiológico normal a reduzido	4
	Pupilas puntiformes e ausência de nistagmo fisiológico	3
	Midríase unilateral irresponsiva com nistagmo fisiológico reduzido	2
	Midríase bilateral irresponsiva e redução do nistagmo fisiológico	1
Total:		

Fonte: Adaptado de Platt, Radaelli e McDonnell (2001).

Para o GS foram selecionados 31 cães conduzidos para consulta na instituição, com sinais clínicos e alterações laboratoriais que indicassem infecção, sendo 23 fêmeas (17 inteiras; 6 castradas) e 8 machos (7 inteiros; 1 castrado). A idade média geral correspondeu a 8 anos. As raças observadas apresentaram a seguinte distribuição: American Bully (1), Basset Hound (1), Boiadeiro Australiano (1), Bulldog Francês (1), Fila Brasileiro (1), Lhasa Apso (1), Mastiff inglês (1), Pinscher (1), Pit Bull (2), Poodle (1), Shih-Tzu (3), Spitz Alemão (1) e Sem Raça Definida (SRD) (16). Dentro desse grupo, os cães poderiam ser subclassificados em choque séptico caso apresentassem a necessidade de uso de vasopressor para normalizar a PAS.

Para confirmar o diagnóstico de sepse, os animais precisavam ser positivos para pelo menos 2 dos critérios diagnósticos utilizados para SIRS (Quadro 1), e apresentar infecção confirmada ou altamente suspeita. Para complementar e padronizar o GS, os cães que apresentassem exame laboratorial confirmando a presença do agente etiológico causador da doença, como por exemplo cultivo microbiológico ou exame

molecular (RT-PCR), tiveram a inclusão priorizada em relação a cães sem confirmação da infecção. Outras escalas, como SOFA, qSOFA, LqSOFA e APPLEfast APPLEfull, foram empregadas com intuito de verificar o potencial diagnóstico e prognóstico em cães com sepse e as correlacionar com cortisol.

4.3 Avaliações clínicas e laboratoriais

Todos os animais selecionados para este estudo foram submetidos a exames clínico e laboratorial. Estes exames foram necessários para a comprovação dos critérios de inclusão e exclusão do GC, e para a confirmação do diagnóstico de sepse dos pacientes do GS. Os parâmetros clínicos avaliados durante o exame físico consistiram em: temperatura retal (°C) com termômetro digital (1 minuto), frequência cardíaca (FC) e frequência respiratória (FR) pela ausculta torácica, pressão arterial sistólica (PAS) obtida em séptupla com doppler vascular, posicionado sobre a artéria metacarpal e manguito vasoconstritor de tamanho apropriado posicionado no membro anterior do paciente, e nível de consciência pela escala de coma de Glasgow, adaptada para a espécie canina. Os dados do exame físico foram coletados do atendimento hospitalar. As análises laboratoriais realizadas foram hemograma, hemogasometria, dosagens bioquímicas séricas conforme citadas anteriormente no item 4.2 e imunoensaio fluorescente (*Fluorescence Immunoassay* – FIA) para dosagem sérica de cortisol.

4.3.1 Coleta e realização de exames laboratoriais

Para realização dos exames laboratoriais, a coleta da amostra sanguínea para hemogasometria foi realizada por punção única da veia jugular, colhendo 1 ml de sangue total em seringa heparinizada própria para hemogasometria (80 U.I. de heparina de lítio). Para os demais exames (hemograma, bioquímica e FIA), a coleta da amostra sanguínea foi realizada por punção única da veia cefálica do membro anterior direito ou esquerdo, em seringa de 5ml. Esta quantidade de sangue total foi dividida em: 1 ml para hemograma, depositados em tubo com anticoagulante Ácido Etileno-Diamino-Tetraacético K₃ (EDTA K₃) de 7,5%; 4 ml para análises bioquímicas e dosagem de cortisol, colocados em tubo seco. A hemogasometria foi realizada em até

15 minutos após a colheita. O hemograma, análises bioquímicas e FIA foram realizadas em até 2 horas após a coleta da amostra. Todos os exames laboratoriais foram realizados no Laboratório Clínico Veterinário da FMVZ-UNESP, Botucatu.

4.3.2 Hemograma

Para realização do hemograma, as contagens de hemácias, leucócitos, plaquetas e determinação de hemoglobina, bem como volume corpuscular médio (VCM), concentração hemoglobina corpuscular média (CHCM) e amplitude de distribuição eritrocitária (RDW) foram realizadas em contador automatizado de células veterinário (Abaxis Vetscan® HM5, Zoetis). O volume globular (VG) foi determinado pelo método do microcapilar de Strumia (11.400 rpm por 5 minutos). A contagem diferencial de leucócitos, juntamente com avaliação morfológica de hemácias, leucócitos e plaquetas, assim como a estimativa de plaquetas em campo de 1.000X, foi realizada em esfregaço sanguíneo corado com corante hematológico comercial (Instant-Prov, Newprov, Pinhais-PR, Brasil), seguindo manual do fabricante.

4.3.3 Hemogasometria

Para este exame, foi necessário o equipamento analisador de gases sanguíneos ABL9 - Radiometer®, em que o sangue colhido em seringa com heparina de lítio, era colocado na abertura do aparelho (logo abaixo da tela – figura 6), conforme as ordens que apareciam no equipamento. Nessa região, havia uma agulha que aspirava automaticamente a amostra e após 60 segundos os resultados eram emitidos.

Figura 6 – Analisador de gases sanguíneos ABL9 - Radiometer®. Fonte: Biodina Brasil



4.3.4 Análises Bioquímicas

O tubo destinado a obtenção de soro foi centrifugado após a colheita e conduzido ao laboratório para análise. A avaliação bioquímica sérica foi realizada em um dispositivo bioquímico automatizado (Roche® - Cobas Mira Plus) usando kits (Bioclin® e Labtest®) de acordo com as recomendações do fabricante. As análises bioquímicas incluíram creatinina (mg/dL), bilirrubina total e direta (mg/dL), ureia (mg/dL), ALT (UI/L), FA (UI/L), GGT (UI/L), glicose (mg/dL), proteína sérica total (g/dL), albumina (g/dL), globulina (g/dL), colesterol (mg/dL) e triglicérides (mg/dL).

4.3.5 Imunoensaio Fluorescente (FIA) – Cortisol

Após a centrifugação do sangue total, uma aliquota de soro foi separada para análise de cortisol sérico, utilizando o analisador Vcheck V-200 (ECO Diagnóstica®). Este dispositivo realizava a medição quantitativa de cortisol sérico empregando um sistema de imunoensaio fluorescente (FIA).

Figura 7 – Analisador Vcheck V-200 (ECO Diagnóstica®)

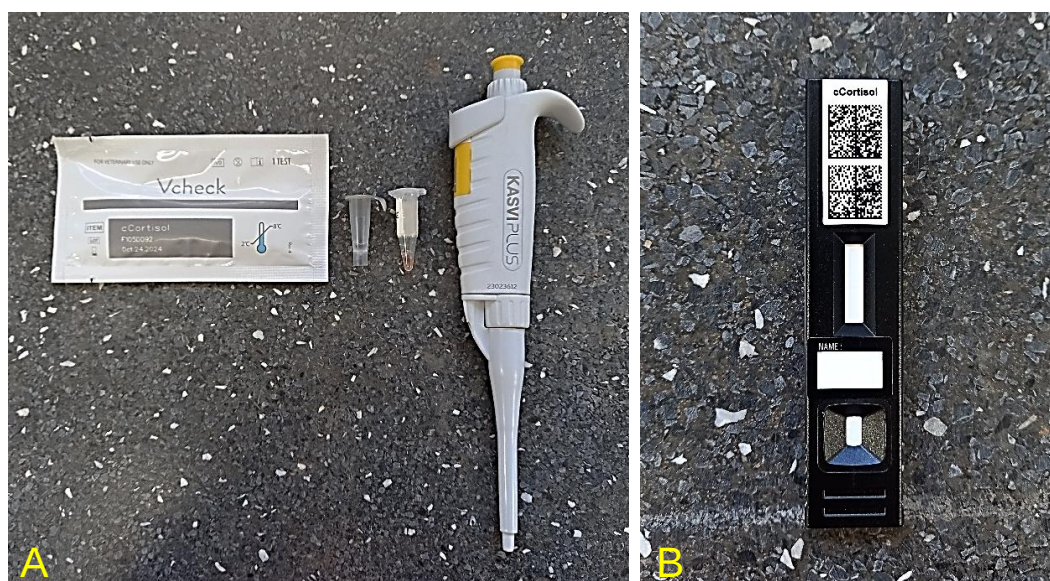


Fonte: Bionote

Para realizar o teste era necessário um kit composto pelo dispositivo teste Vcheck Cortisol e tampão diluente, além de insumos, como, ponteira descartável e pipetas de 50µL e 100µL.

O teste era iniciado ligando o analisador Vcheck V-200 e em seguida selecionando a opção "Teste Padrão", visualizada na tela do aparelho. Após inserir as informações de identificação do animal, o dispositivo teste era removido do sachê de alumínio (embalagem) e inserido no aparelho.

Figura 8 – Insumos para realização do teste



Legenda: (A) Sachet contendo dispositivo teste, tubo diluente, eppendorf com soro do paciente e pipeta automática. (B) Dispositivo teste. Fonte: Arquivo pessoal.

Após a checagem e validação do dispositivo teste pelo aparelho, a opção "Único Teste" era selecionada, assim era necessário coletar 50µL da amostra com uma pipeta e adicionar no tubo diluente, misturando com a própria pipeta cerca de 5 a 6 vezes. Após obter a mistura de reação, era necessário aguardar 10 minutos, que correspondia a um período de incubação obrigatório. Com a incubação concluída, 100µL da mistura de reação era depositado com auxílio de uma pipeta no dispositivo teste e a opção "Aplicar amostra e iniciar" exibida na tela do aparelho era acionada. O analisador exibia o resultado do teste na tela após 10 minutos, o dispositivo teste era ejetado automaticamente do aparelho após esse tempo e era removido manualmente e descartado, assim a dosagem sérica de cortisol era concluída.

4.4 Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software* GraphPad Prism (versão 8.0.1). Inicialmente o teste de Shapiro-Wilk foi empregado para avaliar a distribuição de dados. Os valores da concentração de cortisol foram comparados entre cães saudáveis e com sepse, cães com sepse e choque séptico, e cães que receberam alta e os que vieram a óbito por complicações relacionadas à sepse,

utilizando o teste de Mann-Whitney. Subsequentemente, para as comparações entre pares que apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$), a capacidade discriminativa do cortisol sérico foi avaliada por meio de curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*), com determinação do valor de corte, sensibilidade e especificidade, utilizando um modelo de regressão logística. Caso o cortisol se mostrasse um parâmetro preditivo de mortalidade, a taxa de sobrevivência dos animais com valores acima e abaixo do ponto de corte seria comparada pelo método de Kaplan-Meier. Por fim, a correlação entre os níveis séricos de cortisol e os escores das escalas SIRS, qSOFA, LqSOFA, SOFA, APPLEfast e APPLEfull foi analisada pelo teste de Spearman. Além da correlação com cortisol, as escalas empregadas no estudo também foram analisadas quanto à sua capacidade discriminatória na predição de mortalidade, utilizando curvas ROC. O nível de significância estatística adotado para todas as análises foi $P < 0,05$. Os dados foram apresentados como mediana e intervalo interquartil (IQR).

5. RESULTADOS

As principais doenças que atuaram como causa primária para o desenvolvimento da sepse em cães diagnosticados com essa condição, foram aquelas relacionadas com infecções dos sistemas reprodutivo, digestivo e urinário, entre elas, destacaram-se piometra (11/35,5%), gastroenterite (6/19,3%) e cistite (3/9,6%) respectivamente. Complicações relacionadas a lesões importantes, como feridas com exposição óssea (2/6,4%) e com necrose (3/9,6%) também foram observadas.

Apenas 21 animais apresentaram infecção confirmada por meio de cultivo microbiológico ($n=19$), RT-PCR ($n=1$) e análise de efusão peritoneal ($n=1$). Em alguns pacientes a infecção ou inflamação foi evidenciada pelo exame clínico, realizando a confirmação da possível fonte de infecção por observação, por exemplo lesões e/ou feridas ulceradas apresentando secreção purulenta e/ou áreas de necrose (apesar da coleta e cultura, não apresentaram crescimento *in vitro*). Já em outros casos, exames como radiografia e ultrassonografia auxiliaram o diagnóstico de pneumonia e pancreatite. Todos os casos de gastroenterite, foram altamente suspeitos para parvovirose, mas não tiveram o isolamento viral propriamente dito devido às limitações financeiras por parte dos tutores. A suspeita para tal doença levou em consideração

a ausência de vacinação e a idade dos pacientes, já que praticamente todos eram cães filhotes.

Tabela 4 – Distribuição dos cães diagnosticados com sepse pelos critérios SIRS de acordo com a etiologia e com confirmação da infecção por cultivo microbiológico, RT-PCR ou Análise de Efusão

Causa primária	Sepse	Choque séptico
Cultivo Microbiológico		
Piometra	9	1
Cistite	2	1
Fratura exposta em MTD com necrose	1	-
Lesão em MTD com exposição óssea	1	-
Lesões corporais extensas + IRA	1	-
Peritonite séptica	1	-
Pneumonia + IRA	-	1
Salmonelose + gastroenterite	1	-
RT-PCT		
Parvovirose	1	-
Análise de Efusão		
Piometra + peritonite séptica	1	-
Total	18	3

Apenas 2 animais não apresentaram diagnóstico confirmado, devido a impossibilidade de realizar exames complementares, já que vieram a óbito em menos de 1 hora após a admissão no hospital veterinário. Em relação ao histórico desses pacientes, o primeiro apresentou suspeita de pancreatite, já o segundo veio para atendimento com histórico de trauma por queda em membro posterior e encontrava-se em estado mental comatoso.

Tabela 5 – Distribuição dos cães diagnosticados com sepse pelos critérios SIRS de acordo com a etiologia e sem isolamento microbiológico

Causa primária	Sepse	Choque séptico
Diagnóstico não confirmado	2	-
Doença periodontal com úlcera jugal	1	-
Gastroenterite	2	2
Lesão extensa em prepúcio com necrose	1	-
Pancreatite aguda	-	1

Pneumonia	1	-
Total	7	3

O agente etiológico mais presente nos cultivos microbiológicos foi a bactéria *Escherichia coli*, principalmente nos casos de piometra e cistite. Apenas 1 animal teve isolamento viral por RT-PCR, sendo positivo para *Parvovírus canino*. Em outro animal, apesar de não apresentar a identificação do agente, teve a infecção confirmada pela presença de bactérias bacilos em líquido peritoneal.

Tabela 6 – Principais agentes etiológicos identificados em cães diagnosticados com sepse pelos critérios SIRS

Agente etiológico	Etiologia	Total
<i>E. coli</i>	Piometra	7
<i>E. coli</i>	Cistite	2
<i>E. coli</i> e <i>Edwardsiella tarda</i>	Peritonite séptica	1
<i>E. coli</i> e <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Piometra	1
<i>E. coli</i> hemolítica	Piometra	1
<i>Morganella morganii</i>	Lesão corporais extensas e IRA	1
<i>Parvovírus canino</i>	Parvovirose	1
<i>Pasteurella spp</i>	Pneumonia e IRA	1
<i>Proteus mirabilis</i>	Cistite	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Fratura exposta em MTD	1
<i>Salmonella spp</i>	Salmonelose + gastroenterite	1
<i>Staphylococcus spp</i>	Ferida em MTD	1
<i>Streptococcus beta-hemolítico</i>	Piometra	1
Bacilos (efusão peritoneal)	Piometra + peritonite séptica	1

Em relação aos critérios SIRS, 31 pacientes em sepse alcançaram a pontuação de corte com média e desvio padrão (DP) de $3.25 \pm 0,7$ pontos.

Tabela 7 – Principais parâmetros alterados em cães com SIRS

Parâmetro	Alteração	Animais	Percentual (%)
Frequência respiratória	> 20 rpm	30	96,7
Leucócitos ($\times 10^3$)	< 6.000 ou > 16.000	26	83,8
Frequência cardíaca	> 120 bpm	23	74,7
Temperatura	< 38°C ou > 39,2°C	22	70,9
Neutrófilos bastonetes (%)	> 3%	4	12,9

Dos 26 cães positivos para SIRS que apresentaram alteração no valor total de leucócitos, 19 apresentaram leucocitose e 7 demonstraram leucopenia. Em relação a temperatura, dos 22 animais com alteração nesse parâmetro, 8 apresentaram hipertermia e 14 hipotermia.

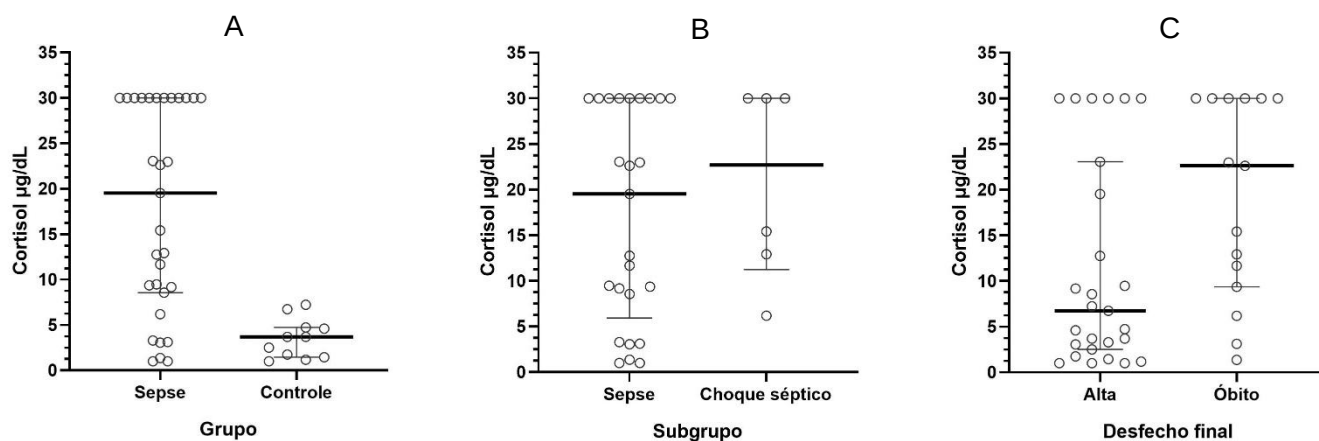
Em relação ao choque séptico, como observado nas tabelas anteriores (tabelas 4 e 5), 6 cães (19,3%) foram classificados nesta condição ao apresentarem PAS não responsiva a expansão de volume intravascular e necessidade de vasopressores para manter a pressão. A taxa de mortalidade geral (incluindo pacientes saudáveis e em sepse) foi de 36%, a taxa de mortalidade em pacientes em sepse foi de 44%, e naqueles classificados em choque séptico alcançou 67%.

5.1 Avaliação da concentração sérica de cortisol

Na avaliação da concentração de cortisol sérico, os resultados foram obtidos em intervalos entre <1 a >30 $\mu\text{g/dL}$ (referência para cães: 0,5 a 6 $\mu\text{g/dL}$), já que o equipamento apresentava essa faixa de mensuração. Os 31 animais do GS demonstraram ampla variação nos níveis de cortisol, compreendendo a faixa de mensuração do aparelho (<1 a >30 $\mu\text{g/dL}$). Entretanto, o valor mais frequente, apresentado por 12 cães do GS, foi o de >30 $\mu\text{g/dL}$. Além disso, conforme os valores referenciais para espécie canina segundo Feldman (1997), apenas 6 animais doentes encontravam-se dentro desse intervalo.

A análise de distribuição de dados, revelou que os níveis de cortisol do grupo GS ($P= 0,0002$) não seguiam uma distribuição normal, já os níveis do GC ($P= 0,2757$) seguiam uma distribuição normal. Comparando os grupos, a concentração de cortisol sérico foi maior ($P= 0,0002$) em pacientes do GS (19,5 $\mu\text{g/dL}$ – IQR: 21,4) em relação ao cortisol do GC (3,7 $\mu\text{g/dL}$ – IQR: 3,3) (Figura 9A). Comparando os níveis de cortisol entre os 25 cães que apresentaram apenas sepse (19,52 – IQR: 24,06) e os 6 caninos que foram subclassificados em choque séptico (22,7 $\mu\text{g/dL}$ – IQR: 18,7), o resultado foi similar ($P= 0,4155$) (Figura 9B). Além disso, os níveis séricos de cortisol foram significativamente mais altos ($P= 0,0342$) nos pacientes que evoluíram para óbito (22,6 $\mu\text{g/dL}$ – IQR: 20,6 $\mu\text{g/dL}$) em comparação com os cães que receberam alta hospitalar (6,7 $\mu\text{g/dL}$ – IQR: 20,5 $\mu\text{g/dL}$) (Figura 9C).

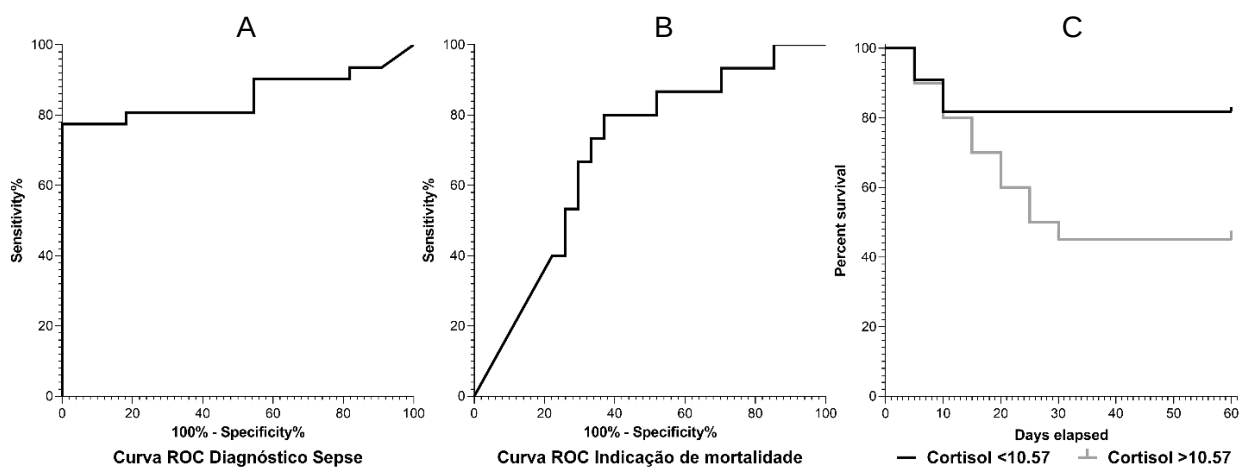
Figura 9 – Distribuição da concentração sérica de cortisol em animais saudáveis, em sepse e choque séptico



Legenda: Representação gráfica da concentração sérica de cortisol (µg/dL) em 31 cães em sepse (GS) e 11 cães saudáveis (GC) (Gráfico A); em 25 cães apenas com sepse e 6 cães subclassificados com choque séptico (Gráfico B); em 27 cães que receberam alta hospitalar e em 15 animais que vieram a óbito durante o experimento (Gráfico C). Os pontos cinzas representam cada uma das mensurações efetuadas, a linha horizontal mais densa a mediana e as barras o intervalo interquartil.

O cortisol foi um biomarcador eficaz para a identificação da sepse nesses cães (AUC= 0,8534; P= 0,0006), com um ponto de corte de >5,45 µg/dL (Figura 10A). Esse valor pode indicar a presença de sepse com uma sensibilidade de 80,6% e especificidade de 81,8%. Ademais, o cortisol sérico também se mostrou um biomarcador associado a mortalidade nesses pacientes (AUC= 0,6963; P= 0.0369). Valores acima de 10,57 µg/dL foram relacionados a um maior risco de óbito, com sensibilidade de 73,3% e especificidade de 66,6% (Figura 10B). A taxa de mortalidade, nos 60 dias de avaliação, foi de 18,1% entre os pacientes com cortisol abaixo desse valor, já nos cães que apresentaram níveis superiores a 10,57 µg/dL, a mortalidade chegou a 55% (Figura 10C).

Figura 10 – Cortisol como biomarcador de sepse, mortalidade e sobrevivência:



Legenda: Curvas ROC comparando a sensibilidade (%) e especificidade (%) da concentração sérica de cortisol ($\mu\text{g/dL}$) para diagnóstico de sepse (A) e previsão de mortalidade (B); e curva de sobrevivência de Kaplan Meyer, indicando a porcentagem de animais que sobreviveram com uma concentração de cortisol $<10.57 \mu\text{g/dL}$ ou $>10.57 \mu\text{g/dL}$ (C).

5.2 Escalas qSOFA, LqSOFA, SOFA, APPLEfull e APPLEfast

Dos 31 animais classificados para o GS, apenas 3 não foram positivos para a escala qSOFA. Desses animais, apenas a frequência respiratória apresentou-se alterada. Os três parâmetros que compõe a escala qSOFA, em conjunto, foram os mais observados com alterações, totalizando 17 animais dos 28 positivos na escala em questão.

No total 21 cães do GS apresentaram dosagem de lactato, a média desse analito foi de $2,29 \text{ mmol/L}$ ($\text{DP} \pm 1,45$). Já no GC, 11 cães apresentaram valores de lactato, com média de $1,77 \text{ mmol/L}$ ($\text{DP} \pm 0,61$). Um ponto adicional foi atribuído ao escore original qSOFA de cada animal caso apresentasse um nível de lactato $>3 \text{ mmol/L}$ (LqSOFA positivo). De 21 cães em sepse com dosagem de lactato, 5 foram positivos para LqSOFA.

A escala SOFA foi empregada nos animais desse estudo para avaliar o grau de disfunção orgânica. De 31 cães do GS, 28 cães foram positivos para a escala em questão. Devido ao uso do sangue venoso, não foi possível avaliar a $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$.

Tabela 8 – Principais disfunções orgânicas observadas em cães com SOFA positivo

Sistema acometido	Número de animais	Percentual (%)
Neurológico	25	89,2
Renal	18	64,2
Coagulação	16	57,1
Hepático	12	42,8
Cardiovascular	5	17,8
Respiratório	–*	–*

Legenda: *variáveis não determinadas.

No sistema de pontuação APPLEfull o único parâmetro não avaliado foi saturação periférica de oxigênio. Abaixo observa-se a média da pontuação dos 31 cães em sepse conforme as diversas escalas usadas no presente estudo (Tabela 9):

Tabela 9 – Pontuações médias das escalas de avaliação dos cães em sepse

Escala	Média $\pm$ DP
qSOFA	2,38 $\pm$ 0,65
LqSOFA	2,47 $\pm$ 0,90
SOFA	5,9 $\pm$ 3,5
APPLEfast	26,19 $\pm$ 4,24
APPLEfull	35 $\pm$ 8,37

Legenda: DP=desvio padrão.

5.2.1 Escalas diagnósticas e mortalidade

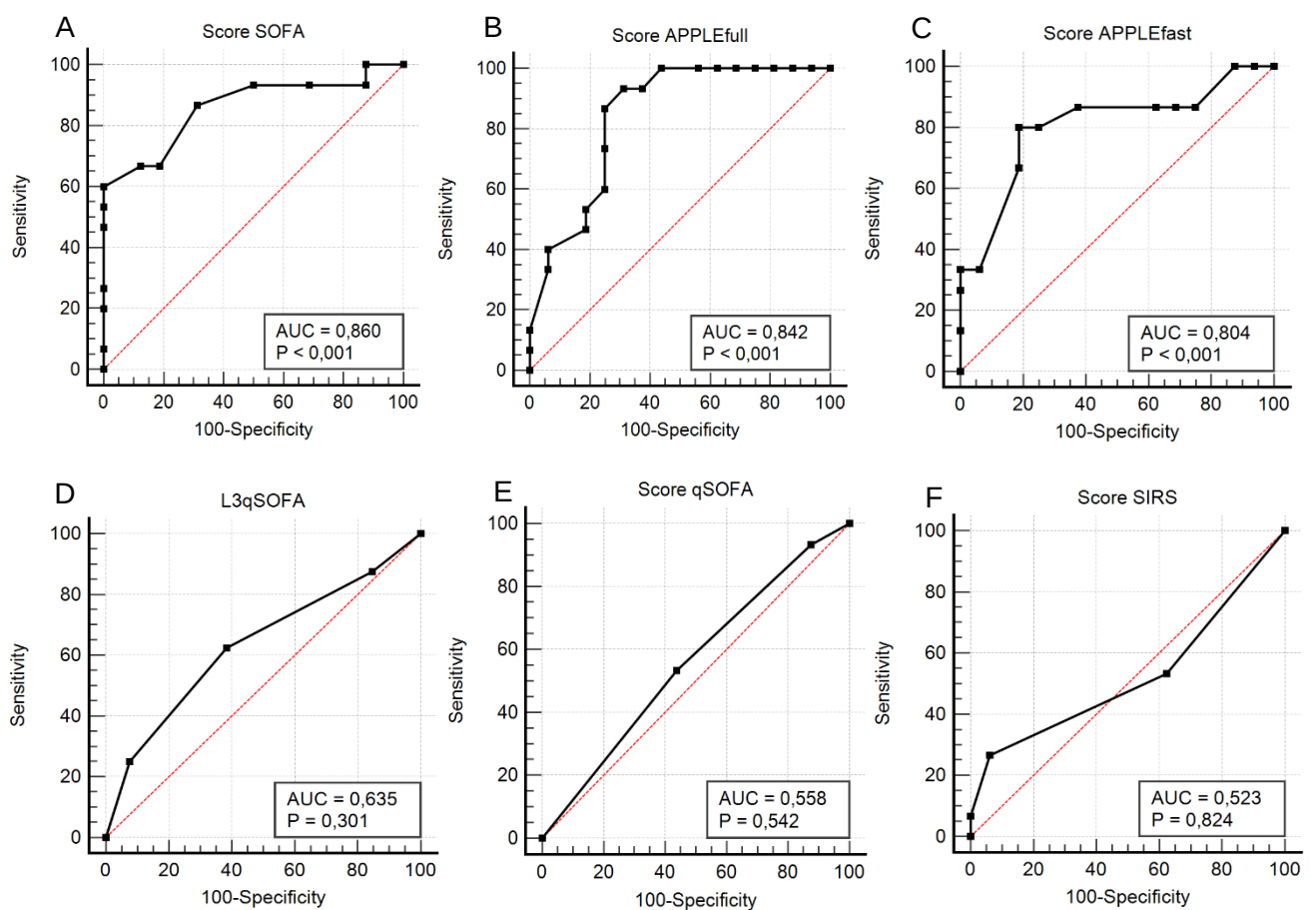
Foram geradas curvas ROC para os escores das escalas SIRS, qSOFA, LqSOFA, SOFA, APPLEfull e APPLEfast, permitindo a comparação de suas respectivas capacidades de predizer a mortalidade em cães sépticos.

A escala que apresentou a melhor capacidade discriminatória em relação a predição de mortalidade, com sensibilidade de 60% e especificidade 100% no ponto de corte >7 , foi a SOFA (AUC= 0,860; IC 95%: 0,689–0,958; $P < 0,001$) (Figura 11A). Seguida pela APPLEfull apresentando capacidade de discriminação boa no ponto de

corte >32 (AUC= 0,842; IC 95%: 0,666-0,947; $P < 0,001$), que apresentou sensibilidade alta (93,33%), mas especificidade (68,75%) menor quando comparada a escala SOFA (Figura 11B). APPLEfast apresentou bom desempenho geral (AUC= 0,804; IC 95%: 0,623-0,924; $P < 0,001$), equilibrando sensibilidade (80%) e especificidade (81,25%) no ponto de corte >26 (Figura 11C).

A AUC de LqSOFA foi de 0,635 com sensibilidade de 62,5% e especificidade de 61,54% (IC 95%: 0,399-0,83; $P = 0,301$) indicando um desempenho moderado, contudo, não estatisticamente significativo (Figura 11D). A escala qSOFA (AUC= 0,558; IC 95%: 0,370-0,735; $P = 0,542$) apresentou baixa capacidade preditiva, com sensibilidade (53,33%) e especificidade (56,25%) insuficientes no ponto de corte >2 (Figura 11E). SIRS (AUC = 0,523; IC 95%: 0,337-0,704; $P = 0,824$) demonstrou desempenho próximo ao acaso, com alta especificidade (93,75%) no ponto de corte ≤ 2 , porém sensibilidade muito baixa (26,67%) (Figura 11F).

Figura 11 – Capacidade discriminatória dos escores clínicos e laboratoriais em prever a mortalidade de cães sépticos

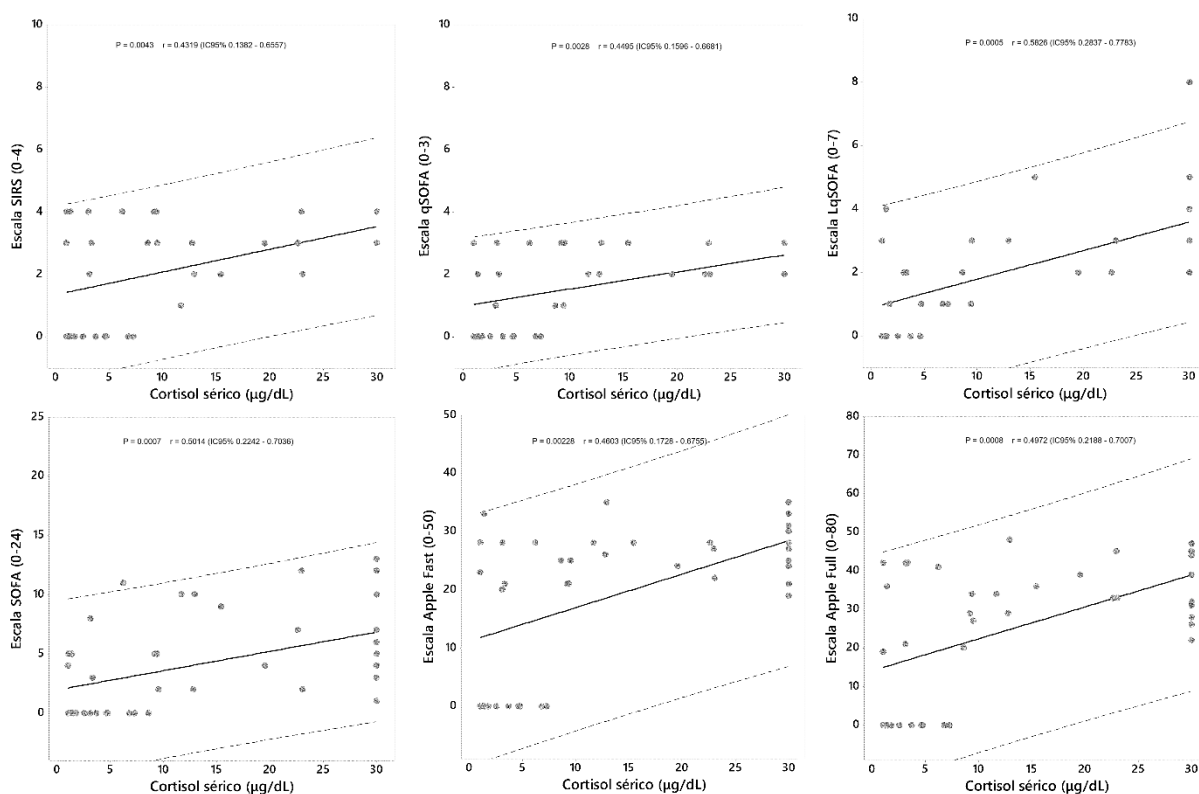


Legenda: Curvas ROC e respectivas áreas sob a curva (AUC) dos escores clínicos e laboratoriais na predição do risco de mortalidade em cães com sepse: (A) SOFA, (B) APPLEfull, (C) APPLEfast, (D) LqSOFA, (E) qSOFA e (F) SIRS.

5.3 Relação entre cortisol e escalas de avaliação da sepse

Associando os níveis de cortisol séricos com os valores obtidos nas escalas utilizadas para a identificação e/ou classificação da gravidade da sepse, observou-se correlação significativa e positiva para todas as escalas (Figura 12):

Figura 12 – Correlações: cortisol com diferentes escalas clínicas e laboratoriais (SIRS, qSOFA, LqSOFA, SOFA, APPLEfull e APPLEfast).



Legenda: da esquerda para direita – SIRS (P= 0.0043; r= 0,4319), qSOFA (P= 0.0028; r = 0,4495), LqSOFA (P= 0.0005; r= 0,5826), SOFA (P= 0.0007; r= 0,5014), APPLEfast (P= 0.0022; r= 0,4603) e APPLEfull (P= 0.0008; r= 0,4972).

6. DISCUSSÃO

As doenças de base para o desenvolvimento da sepse nos animais do presente estudo foram condizentes com a literatura como visto anteriormente, com destaque para piometra. Hagman (2018), aponta que aproximadamente 60% das cadelas com piometra desenvolvem sepse.

A respeito da inclusão de animais sem infecção comprovada laboratorialmente, principalmente com cultivo microbiológico que é considerado padrão ouro (DUNCAN et al., 2021), pode enviesar os resultados ao envolver animais em condição menos grave, além de animais não sépticos, visto a alta sensibilidade dos critérios de avaliação da sepse, como por exemplo os critérios SIRS (CORTELLINI et al., 2024). Contudo, a inclusão de animais com infecção suspeita no estudo pode ser justificada pelo fato de que, na prática clínica, esses casos frequentemente exigem intervenções rápidas, mesmo sem a confirmação laboratorial imediata.

No consenso Sepsis-3, houve um acordo unânime de que o choque séptico deve refletir uma doença mais grave, com uma probabilidade muito maior de morte do que somente sepse (SINGER et al., 2016). Esse fato foi observado nos animais que vieram a óbito, já que a taxa de mortalidade em pacientes em sepse foi de 44%, e naqueles classificados em choque séptico alcançou 67%.

Os principais agentes identificados no foco da infecção por cultivo microbiológico foram semelhantes aos do estudo de Camargo, Arias e Perugini (2021), em que se identificou de forma mais frequente bactérias gram-negativas em cães com sepse, principalmente *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*, respectivamente. Em outro estudo, as principais bactérias identificadas no conteúdo uterino de cadelas com piometra e sepse, consistiram em *E. coli*, *Streptococcus β hemolítico* e *Pseudomonas mirabilis* (KARLSSON et al., 2016). Hagman (2022), também destaca que o patógeno predominante isolado em cadelas com de piometra é a *E. coli*, que pode facilmente causar uma infecção ascendente por fazer parte naturalmente da microbiota gastrointestinal e vaginal.

Uso dos critérios de SIRS foi empregado no presente estudo, já que muitos autores dentro da Medicina veterinária definem sepse como uma síndrome clínica que inclui a síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS) e alta suspeita de infecção ou a sua confirmação, conforme definições anteriores de sepse em humanos

(consensos de 1992 e 2003) (ORTALINI e BELLIS, 2021; CORTELLINI et al., 2024). O estudo de Zhao e colaboradores (2012), alegou que a definição de sepse de 1992 era 95% sensível e 61% específica, enquanto a definição de 2003 era 97% sensível e 58% específica em relação a precisão diagnóstica. As definições de sepse veterinária derivadas desses critérios provavelmente seguirão esses valores de forma semelhante. Como relatado anteriormente, todos os 31 cães do grupo sepse atenderam no mínimo dois parâmetros de SIRS, sendo assim, foi demonstrada uma alta sensibilidade diagnóstica conforme a literatura indica.

Neste estudo, foi observado que a concentração sérica de cortisol aumentou significativamente em animais com sepse ou choque séptico, quando comparada a valores de animais saudáveis, conforme também evidenciado por Boag e colaboradores (2020). Portanto, este resultado indica uma resposta do organismo acentuada ao estresse, que é diretamente associada à condição de sepse (ANNANE, 2016; FREDRICK et al., 2024). O aumento da concentração de cortisol sérico durante doenças agudas e graves é dito como uma consequência de múltiplos fatores. Essa condição é atribuída, em parte, à intensificação da atividade do eixo HPA, estimulada pela liberação de catecolaminas, citocinas pró-inflamatórias e processos de esteroidogênese adrenal que ocorrem independentemente do ACTH, entre outros mecanismos (POLITO et al., 2011; ANNANE et al., 2017).

Neste estudo, foi possível determinar um ponto de corte da concentração sérica de cortisol para auxiliar no diagnóstico da sepse, estabelecido em 5,45 µg/dL. Além disso, o cortisol também se mostrou um biomarcador associado à mortalidade, apresentando níveis mais elevados em cães que foram a óbito em comparação com aqueles que receberam alta hospitalar. Valores acima de 10,57 µg/dL representaram um ponto de corte ideal para maior risco de mortalidade, com sensibilidade de 73% e especificidade de 67%. No estudo de Boag e colaboradores (2020), resultados diferentes foram apresentados, já que dentro das populações de cães com doença crítica (sepse e choque séptico), a comparação das concentrações totais de cortisol entre sobreviventes e não sobreviventes não revelou diferenças significativas. Porém, os resultados obtidos no presente estudo também mostram semelhanças em relação à literatura prévia. Por exemplo, em um estudo demonstrou-se que a concentração de cortisol sérico foi maior em cães gravemente doentes, incluindo caninos em sepse,

que não sobreviveram à alta em comparação com a concentração daqueles que receberam alta hospitalar (SWALES, BATCHELOR e O'CONNELL, 2020).

Neste último estudo supracitado, uma concentração sérica de cortisol de 7,6 µg/dL foi apontada como ponto de corte ideal, com sensibilidade de 58% e especificidade de 80% para predizer a não sobrevivência à alta hospitalar. O estudo de Yuki e colaboradores (2019), que investigou o potencial do cortisol sérico como marcador prognóstico em cães com várias doenças que necessitavam de hospitalização, também estabeleceu um ponto de corte para predizer o risco mortalidade, sendo de 6,6 µg/dL com sensibilidade de 89,5 e especificidade de 61,9%.

É válido ressaltar que apesar dos resultados positivos apresentados, a faixa limitada de mensuração do equipamento utilizado, que variou entre < 1 a > 30 µg/dL, possa ter provavelmente restringindo ou comprometido a identificação de variações mais amplas nos níveis de cortisol, assim impactando negativamente na comparação entre os dois subgrupos. Logo, é importante considerar que valores fora dessa faixa, podem ter influenciado acentuadamente os desfechos clínicos de modo não capturado pelos dados disponíveis.

Em relação a esse fator limitante observado, é fundamental destacar que o equipamento utilizado realiza testes do tipo *point of care*, que são exames realizados diretamente no local de atendimento ao paciente, o que permite obter resultados de forma rápida, facilitando decisões clínicas imediatas e otimizando o manejo do paciente. Ademais, alguns animais não apresentaram a confirmação de infecção, o que pode ter influenciado os resultados por falta de padronização do grupo de cães em sepse. Do ponto de vista científico, também seria importante avaliar o cortisol sérico em um grupo com condições ou doenças específicas, pois esse método poderia garantir uma padronização mais precisa e, conseqüentemente, resultados mais consistentes e relevantes para a compreensão da resposta fisiológica.

Em cães, a insuficiência adrenal relativa à doença crítica (CIRCI) já foi relatada em doenças agudas como sepse, trauma grave e dilatação volvo-gástrica (YUKI et al., 2019). Apesar da importância dessa condição em cães com sepse, no presente estudo não foi determinada a presença de CIRCI devido à ausência de realização do teste de estimulação com hormônio adrenocorticotrófico. Observando os níveis de cortisol dos caninos em sepse do presente estudo, 2 animais demonstraram valor <1 µg/dL, mas não é possível afirmar que ambos apresentaram CIRCI apesar do valor suspeito de

cortisol, assim como também não pode ser descartada a suspeita dessa condição nos cães que apresentaram cortisol $>30 \mu\text{g/dL}$, já que é descrito que a insuficiência adrenal pode ser diagnosticada erroneamente com base apenas na mensuração da concentração de cortisol sérico (YUKI et al., 2019).

Para demonstrar a importância do teste de estimulação, pode ser exemplificado o estudo de Jericó e colaboradores (2020). Nesse estudo, cães em estado crítico, incluindo aquelas com sepse, apresentaram níveis de cortisol basal significativamente mais altos que os saudáveis, contudo, após o teste de estimulação com ACTH, o valor de Δ -cortisol foi menor que os valores normais em alguns cães com doença crítica, ou seja, uma parcela significativa dos cães doentes (especialmente com sepse) apresentou sinais de CIRCI, caracterizados pela baixa resposta ao ACTH. Sabendo disso, mesmo com níveis elevados de cortisol pode haver evidências de CIRCI, pois essa condição se refere à incapacidade do organismo de produzir ou responder ao cortisol de forma suficiente para atender às demandas do estado crítico, e não apenas aos níveis absolutos de cortisol (ANNANE et al., 2017).

Neste estudo foram empregadas diversas escalas usadas para avaliar pacientes em sepse com intuito e avaliar capacidade discriminatória em relação a predição de mortalidade e as correlacionar com os níveis séricos de cortisol.

Em relação a escala SOFA, uma pontuação geral no escore dessa escala sem a avaliação da variável respiratória, que depende da relação $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$, pode comprometer a precisão do diagnóstico de disfunção respiratória em pacientes sépticos, o que representa um fator limitante da presente pesquisa. Em um estudo retrospectivo, Briganti e colaboradores (2016) afirmaram que uma escala SOFA acima de 9,5 pontos estava associada a uma taxa de mortalidade de 100% em cães internados em UTI veterinária. Somando a isso, o estudo determinou uma pontuação SOFA de 5,5 com sensibilidade de 56,6% e especificidade de 92,8% para estabelecer prognóstico desfavorável. De modo semelhante ao estudo citado, a escala SOFA apresentou sensibilidade de 60% e especificidade 100% no ponto de corte >7 . Sabendo disso, mesmo que a SOFA ainda não seja validada para cães, demonstra resultados positivos para indicar o desfecho clínico em cães em sepse.

A segunda e terceira melhores ferramentas de pontuação para prever o desfecho clínico foram APPLEfull e APPLEfast respectivamente. Como citado anteriormente, no estudo de Hayes colaboradores (2010) foi apontando que APPLEfull apresentou maior

precisão na predição de mortalidade (AUC= 0,93), o ponto de corte sugerido foi ≥ 30 pontos (máximo de 80), com sensibilidade de 81,2% e especificidade de 89,4%. Já o APPLEfast (AUC= 0,87) perdeu em precisão em comparação ao APPLEfull, contudo sua aplicação é mais prática, já que apresenta apenas 5 variáveis, o ponto de corte sugerido foi ≥ 22 pontos (máximo de 50), com sensibilidade de 73,8% e especificidade de 80%. Resultados semelhantes foram observados na pesquisa em discussão, principalmente em relação aos pontos de corte sugeridos: >32 e >26 para APPLEfull e APPLEfast respectivamente.

Alguns estudos apontam que a inclusão do lactato como critério de pontuação na escala qSOFA aumenta sua capacidade preditiva (SHETTY et al., 2017; Liu et al., 2020). Adotando LqSOFA como critério de avaliação nesse estudo (lactato >3), os resultados mostraram um desempenho moderado, mas não significativo na discriminação entre sobreviventes e não sobreviventes. Esses valores indicam que, embora o lactato seja um marcador amplamente utilizado na avaliação de gravidade em pacientes sépticos, sua incorporação ao escore qSOFA nas variações analisadas não demonstrou uma capacidade de discriminação suficiente para ser considerada confiável nesta amostra, esse resultado pode ser relacionado ao número amostral pequeno.

Em relação ao uso do qSOFA, a grande vantagem é a inclusão de critérios que podem ser fácil e rapidamente realizados no ambiente clínico, além de não necessitar prontamente de exames laboratoriais (SINGER et al., 2016). Comparando esta escala com os critérios SIRS, ambas apresentaram alta sensibilidade, já que 28 animais foram positivos para qSOFA e 31 para SIRS. Entretanto, apesar dessa escala poder ser utilizada para alertar os clínicos sobre a possibilidade de sepse, deve ser complementada com outras ferramentas, como SIRS, SOFA, e sinais clínicos, especialmente devido às limitações de sua sensibilidade observada em outros estudos (EVANS et al., 2021). Em relação a implementação do qSOFA em cães, como supracitado, não há um consenso estabelecido. Analisando sua capacidade para prever mortalidade, o resultado não significativo pode ser justificado pelo fato de ser um escore indicado primeiramente para triagem de pacientes potencialmente em sepse, assim como os critérios SIRS (SINGER et al., 2016; SEYMOUR et al., 2016).

As concentrações de cortisol sérico, quando analisadas isoladamente, foram suficientes para diferenciar cães em sepse que evoluíram para óbito daqueles que receberam alta hospitalar. Embora esse resultado seja positivo, as correlações realizadas entre cortisol e as escalas diagnósticas proporcionaram percepções importantes e devem ser levadas em consideração. A correlação com cortisol mais forte foi entre LqSOFA, contudo, essa escala apresentou desempenho limitado na capacidade discriminativa para prever o risco de mortalidade (AUC= 0,635; $p=0,301$), logo não atribui valor prognóstico ao hormônio em questão. Porém, as escalas SOFA, APPLEfull e APPLEfast demonstraram boa capacidade de refletir a gravidade da doença e o risco de mortalidade, logo a associação do cortisol com essas escalas, que integram múltiplos parâmetros fisiológicos, pode ampliar ainda mais seu valor prognóstico.

7. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que a concentração sérica de cortisol foi um indicador relevante na distinção entre cães saudáveis e aqueles diagnosticados com sepse pelos critérios SIRS e infecção confirmada ou suspeita, além de ter se mostrado eficaz para prever o prognóstico dos pacientes.

Em relação às escalas empregadas no estudo, o escore SOFA apresentou a melhor capacidade discriminatória na predição de mortalidade. Diante disso, essa escala se mostrou uma ferramenta relevante para avaliar o prognóstico e a gravidade da disfunção orgânica em cães sépticos do presente estudo. Dessa forma, a integração do cortisol com essa ferramenta, e até mesmo com outras escalas que demonstraram bom desempenho na avaliação dos pacientes, como APPLEfast e full, pode aprimorar sua utilidade prognóstica e fortalecer sua aplicação na prática clínica.

8. BIBLIOGRAFIA

ALMEIDA, N. R. C. et al. Análise de tendência de mortalidade por sepse no Brasil e por regiões de 2010 a 2019. **Revista de Saúde Pública**, v. 56, p. 25, 2022.

ALVES, F. et al. Canine parvovirus: a predicting canine model for sepsis. **BMC veterinary research**, v. 16, p. 1-11, 2020.

ANNANE, D. The role of ACTH and corticosteroids for sepsis and septic shock: an update. **Frontiers in endocrinology**, v. 7, p. 70, 2016.

ANNANE, D. et al. Critical illness-related corticosteroid insufficiency (CIRCI): a narrative review from a Multispecialty Task Force of the Society of Critical Care Medicine (SCCM) and the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). **Intensive care medicine**, v. 43, p. 1781-1792, 2017.

BATTAGLIA, F. et al. Detection of canine and equine procalcitonin for sepsis diagnosis in veterinary clinic by the development of novel MIP-based SPR biosensors. **Talanta**, v. 230, p. 122347, 2021.

BOAG, A. M. et al. Glucocorticoid metabolism in critically ill dogs (Canis lupus familiaris). **Domestic animal endocrinology**, v. 72, p. 106437, 2020.

BRIGANTI, A. et al. The sequential organ failure assessment (SOFA) score in predicting mortality in critical dogs. **Journal Of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 26, n. S1, p. S1-S35-S35, 2016.

CAMARGO, V. E. J.; ARIAS, M. V. B.; PERUGINI, M. R. E. Clinical and microbiological characteristics of dogs in sepsis in an academic veterinary hospital in the north of Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 40, p. 903-913, 2021.

CECCONI, M. et al. Sepsis and septic shock. **The Lancet**, v. 392, n. 10141, p. 75-87, 2018.

CHAKRABORTY, R. K.; BURNS, Bracken. Systemic inflammatory response syndrome. 2019.

CHEN, G. Y.; NUÑEZ, G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. **Nature Reviews Immunology**, v. 10, n. 12, p. 826-837, 2010.

CORTELLINI, S. et al. Defining sepsis in small animals. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 34, n. 2, p. 97-109, 2024.

CREEDON, J. M. Burkitt. Controversies surrounding critical illness-related corticosteroid insufficiency in animals. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 25, n. 1, p. 107-112, 2015.

DE LAFORCADE, A. M.: Systemic inflammatory response syndrome. In: Silverstein D. C., Hopper K.: **Small Animal Critical Care Medicine**, Elsevier Saunders, St. Louis, p. 46-49, 2009.

DE LAFORCADE, A. M. et al. Hemostatic changes in dogs with naturally occurring sepsis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, n. 5, p. 674, 2003.

DONATI, P. et al. Retrospective evaluation of the use of quick Sepsis-related Organ Failure Assessment (qSOFA) as predictor of mortality and length of hospitalization in dogs with pyometra (2013-2019): 52 cases. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 32, n. 2, p. 223-228, 2022.

DUNCAN, C, F. et al. Diagnostic challenges in sepsis. **Current Infectious Disease Reports**, v. 23, p. 1-14, 2021.

ELBUKEN, G. et al. Comparison of total, salivary and calculated free cortisol levels in patients with severe sepsis. **Journal of Intensive Care**, v. 4, p. 1-10, 2016.

EVANS, L, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. **Critical care medicine**, v. 49, n. 11, p. e1063-e1143, 2021.

FELDMAN, E. C. Hiperadrecorticismo In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 4. ed. São Paulo: Manole, p. 2123-2176, 1997.

FERNANDO, S. M. et al. Prognostic accuracy of the quick sequential organ failure assessment for mortality in patients with suspected infection: a systematic review and meta-analysis. **Annals of internal medicine**, v. 168, n. 4, p. 266-275, 2018.

FLEISHCHMANN, C. et al. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. Current estimates and limitations. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 193, n. 3, p. 259-272, 2016.

FREDRICK, F. C. et al. Critical illness-related corticosteroid insufficiency: latest pathophysiology and management guidelines. **Acute and Critical Care**, v. 39, n. 3, p. 331-340, 2024.

GAYDOU, L.; BERTUZZI, R.; MORETTI, E. La sepsis como estresor: asociación con los niveles séricos de cortisol, proteína C reactiva e interleuquina1beta. **Acta bioquímica clínica latino-americana**, v. 43, n. 3, p. 299-305, 2009.

GOGGS, R. et al. Serial analysis of blood biomarker concentrations in dogs with pneumonia, septic peritonitis, and pyometra. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 36, n. 2, p. 549-564, 2022.

HAGMAN, R. Pyometra in small animals. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 48, n. 4, p. 639-661, 2018.

HAGMAN, R. Pyometra in small animals 2.0. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 52, n. 3, p. 631-657, 2022.

HAYES, G. et al. The acute patient physiologic and laboratory evaluation (APPLE) score: a severity of illness stratification system for hospitalized dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 24, n. 5, p. 1034-1047, 2010.

JERICÓ, M. M. et al. Adrenal function evaluation in critically ill dogs with low doses of synthetic ACTH. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 57, n. 2, p. e167299-e167299, 2020.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed, Academic Press, Cambridge, 1997.

KARLSSON, I. et al. Multiplex cytokine analyses in dogs with pyometra suggest involvement of KC-like chemokine in canine bacterial sepsis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 170, p. 41-46, 2016.

LAMBDEN, S. et al. The SOFA score—development, utility and challenges of accurate assessment in clinical trials. **Critical Care**, v. 23, p. 1-9, 2019.

LINCK JÚNIOR, Arnildo et al. Frequência de insuficiência adrenal em crianças com sepse. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 23, p. 478-483, 2011.

LIU, S. et al. Lactate-enhanced-qSOFA (LqSOFA) score is superior to the other four rapid scoring tools in predicting in-hospital mortality rate of the sepsis patients. **Annals of Translational Medicine**, v. 8, n. 16, 2020.

MACHADO, F. R. et al. The epidemiology of sepsis in Brazilian intensive care units (the Sepsis PREvalence Assessment Database, SPREAD): an observational study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 11, p. 1180-1189, 2017.

MARCHETTI, M. et al. Critical illness-related corticosteroid insufficiency in dogs with systemic inflammatory response syndrome: A pilot study in 21 dogs. **The Veterinary Journal**, v. 273, p. 105677, 2021.

MEYER, D.; HARVEY, J. W. **Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation and Diagnosis**. 3 ed. Saunders, Philadelphia. 2004.

MONTEALEGRE, F.; LYONS, B. M. Fluid Therapy in Dogs and Cats With Sepsis. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, p. 622127, 2021.

MORENO, R. et al. The Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) Score: has the time come for an update?. **Critical care**, v. 27, n. 1, p. 15, 2023.

ORTOLANI, J. M.; BELLIS, T. J. Evaluation of the quick sequential organ failure assessment score plus lactate in critically ill dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 62, n. 10, p. 874-880, 2021.

OSGOOD, A. M.; HOLLENBECK, D.; YANKIN, I. Evaluation of quick sequential organ failure scores in dogs with severe sepsis and septic shock. **Journal of Small Animal Practice**, v. 63, n. 10, p. 739-746, 2022.

PLATT, S. R.; RADAELLI, S. T.; MCDONNELL, J. J. The prognostic value of the modified Glasgow Coma Scale in head trauma in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 15, n. 6, p. 581-584, 2001.

POLITO, A. et al. Changes in CRH and ACTH synthesis during experimental and human septic shock. **PLoS One**, v. 6, n. 11, p. e25905, 2011.

RAGHUNATHAN, V. The contact pathway and sepsis. **Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis**, v. 3, n. 3, p. 331-339, 2019.

RIPANTI, D. Application of the Sequential Organ Failure Assessment Score to predict outcome in critically ill dogs: Preliminary results. **Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde**, v. 152, n. 8, p. 325–330, 2012.

SEKULIC, A. D. et al. Scoring systems in assessing survival of critically ill ICU patients. **Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research**, v. 21, p. 2621, 2015.

SEYMOUR, C. W. et al. Assessment of clinical criteria for sepsis: for the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). **Jama**, v. 315, n. 8, p. 762-774, 2016.

SHETTY, A. et al. Lactate ≥ 2 mmol/L plus qSOFA improves utility over qSOFA alone in emergency department patients presenting with suspected sepsis. **Emergency Medicine Australasia**, v. 29, n. 6, p. 626-634, 2017.

SILVERSTEIN, D. C.; SANOTORO-BEER, K. Síndrome de Resposta Inflamatória Sistêmica (SRIS). . In: RABELO, R. C. **Emergências de Pequenos Animais – Condutas clínicas e cirúrgicas no paciente grave**. 1 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, Cap. 19, p. 444-450, 2012.

SIMPSON, S. Q. SIRS in the Time of Sepsis-3. **Chest**, v. 153, n. 1, p. 34-38, 2018.

SINGER, M. et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). **Jama**, v. 315, n. 8, p. 801-810, 2016.

SUMMERS, A. M. et al. Clinical features and outcome of septic shock in dogs: 37 Cases (2008-2015). **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 31, n. 3, p. 360-370, 2021.

SWALES, H.; BATCHELOR, D. J.; O'CONNELL, E. M. Evaluation of serum cortisol concentration as a prognostic indicator for nonsurvival to hospital discharge in critically ill dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 256, n. 9, p. 1034-1040, 2020.

TÉBLICK, A. et al. Adrenal function and dysfunction in critically ill patients. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 15, n. 7, p. 417-427, 2019.

THRALL, M. A. et al. **Veterinary hematology, clinical chemistry and cytology**. 3 ed, New Jersey, Wiley-Blackwell, 2022.

TILLEY, L. P.; GOODWIN, J. K. **Manual of canine and feline cardiology**. 3 ed. Philadelphia: W.B. Saunders, p.337-344. 2002.

TOLIBIN, R. T.; WIDIRETNANI, S.; MOELYO, A. G. Cortisol levels associated with mortality in children with critical illness: a systematic review. **Paediatrica Indonesiana**, v. 63, n. 6, p. 472-82, 2023.

VANDEWALLE, J.; LIBERT, C. Glucocorticoids in sepsis: to be or not to be. **Frontiers in immunology**, v. 11, p. 1318, 2020.

WARD, P. A. New approaches to the study of sepsis. **EMBO molecular medicine**, v. 4, n. 12, p. 1234-1243, 2012.

WASYLUK, W.; WASYLUK, M.; ZWOLAK, A. Sepsis as a pan-endocrine illness—endocrine disorders in septic patients. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 10, p. 2075, 2021.

WONG, D. M. et al. Evaluation of updated sepsis scoring systems and systemic inflammatory response syndrome criteria and their association with sepsis in equine neonates. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 32, n. 3, p. 1185-1193, 2018.

YAZLIK, M. O. et al. The evaluation of SIRS status with hemato-biochemical indices in bitches affected from pyometra and the Usefulness of these indices as a potential diagnostic tool. **Theriogenology**, v. 193, p. 120-127, 2022.

YUKI, M. et al. Investigation of serum cortisol concentration as a potential prognostic marker in hospitalized dogs: a prospective observational study in a primary care animal hospital. **BMC veterinary research**, v. 15, p. 1-9, 2019.

ZHANG, Q. et al. Prognostic significance of hypothalamic–pituitary–adrenal axis hormones in early sepsis: a study performed in the emergency department. **Intensive care medicine**, v. 40, p. 1499-1508, 2014.

ZHAO, H. et al. An evaluation of the diagnostic accuracy of the 1991 American college of chest physicians/society of critical care medicine and the 2001 society of critical care medicine/European society of intensive care medicine/American college of chest

physicians/American thoracic society/surgical infection society sepsis definition. **Critical care medicine**, 40(6), pp.1700-1706, 2012.

ZINGARELLI, B. Part I: Minimum Quality Threshold in Pre-clinical Sepsis Studies (mqtipss) for Study Design and Humane Modeling Endpoints. **Shock (Augusta, Ga.)**, v. 51, n. 1, p. 10, 2019.