

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

**PROTEÍNA C REATIVA COMO BIOMARCADOR DE SEPSE
ESPONTÂNEA EM CÃES**

LAURA SOARES MAGALHÃES

Botucatu, São Paulo

Janeiro de 2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

**PROTEÍNA C REATIVA COMO BIOMARCADOR DE SEPSE
ESPONTÂNEA EM CÃES**

LAURA SOARES MAGALHÃES

Dissertação apresentada junto ao Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária para obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Fernandes Marcusso

Botucatu, São Paulo

Janeiro de 2025

M188p Magalhães, Laura Soares
Proteína C reativa como biomarcador de sepse espontânea em cães / Laura Soares Magalhães. -- Botucatu, 2025
55 p. : tabs., fotos

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

1. inflamação. 2. SRIS. 3. infecção. 4. canina. 5. SOFA. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp.
Dados fornecidos pelo autor(a).

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

LAURA SOARES MAGALHÃES

22/01/2025

Comissão Examinadora:

Profa. Dra. Beatriz Gasser

Instituto de Ciências Agrárias (ICA)

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, UFVJM, Unaí,

Minas Gerais, Brasil.

Profa. Dr. Ricardo Andres Ramirez Uscategui

Departamento de Sanidad Animal

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad del Tolima, Tolima,

Ibagué, Colombia.

Botucatu, São Paulo

Janeiro de 2025

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

"This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001" and by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (CNPq).



IMPACTO POTENCIAL DESSA PESQUISA

Esse trabalho pode impactar positivamente a sociedade por trazer dados a favor da saúde única, uma vez que seu objetivo principal é o estudo de uma síndrome que leva um número exorbitante de humanos e animais a óbito todos os dias. Seu propósito vai de encontro com o 3º objetivo dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) que visa Saúde e Bem-Estar.

Lista de tabelas, quadros e figuras

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Critérios do qSOFA (quick Sepsis-related Organ Failure Assessment) para a espécie canina | 23 |
| Tabela 2. Critérios do LqSOFA (quick Sequential Organ Failure Assessment with lactate) para a espécie canina | 23 |
| Tabela 3. Critério SRIS (Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica) para a espécie canina | 23 |
| Tabela 4. Escore SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) adaptado à espécie canina | 25 |
| | |
| Quadro 1. AppleFast (Acute Patient Physiologic and Laboratory Evaluation Fast)..... | 26 |
| Quadro 2. AppleFull (Acute Patient Physiologic and Laboratory Evaluation Full) | 27 |
| Quadro 3. Resultados da porcentagem das etiologias, os agentes isolados e os métodos diagnósticos utilizados na identificação das infecções dos animais em sepse e choque séptico. | 42 |
| | |
| Figura 1. Representação gráfica da concentração sérica de PCR (mg/L) em 11 animais saudáveis, em 25 animais em sepse e 6 classificados como em choque séptico | 43 |
| Figura 2. Curvas ROC que comparam a sensibilidade preditiva e a especificidade em % da concentração sérica de PCR (mg/L) para determinação de sepse, a mortalidade e curva de sobrevivência de Kaplan Meyer. | 44 |
| Figura 3. Gráficos de regressão linear, representando a relação existente entre os níveis séricos de PCR (mg/L) e as escalas: SRIS, qSOFA, LqSOFA, SOFA, APPLEfast e APPLEfull (correção de Spearman). | 45 |

Lista de abreviações

Apple: Acute Patient Physiologic and Laboratory Evaluation

AppleFast: Acute Patient Physiologic and Laboratory Evaluation Fast

AppleFull: Acute Patient Physiologic and Laboratory Evaluation Full

bpm: batimentos por minuto

FC: Frequência Cardíaca

FIA: Imunoensaio Fluorescente

FR: Frequência Respiratória

HCT: Hematócrito

IL-1: Interleucina 1

IL-17: Interleucina 17

IL-6: Interleucina 6

INF- γ : Interferon- γ

kDa: *quilodaltons*

LPS: lipopolissacarídeos

LqSOFA: quick Sequential Organ Failure Assessment with lactate

mmHg: Milímetros de mercúrio

PAM: Pressão Arterial Média

PAS: Pressão Arterial sistólica

PCR: Proteína C Reativa

PPT: Proteína Plasmática Total

qSOFA: quick Sepsis-related Organ Failure Assessment

rpm: respirações por minuto

SDMO: Síndrome da Disfunção de Múltiplos Órgãos

SIRS: Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica

SOFA: Sequential Organ Failure Assessment

TLRs: *Toll-like*

TNF- α : Fator de necrose tumoral alfa.

UTI: Unidade de Terapia Intensiva

Sumário

| | |
|--|----|
| INTRODUÇÃO..... | 14 |
| REVISÃO DE LITERATURA | 15 |
| Proteína C Reativa (PCR)..... | 15 |
| Papel da Proteína C Reativa como biomarcador na sepse..... | 16 |
| Função de um biomarcador..... | 17 |
| Escalas de pontuação utilizadas no contexto de sepse..... | 18 |
| OBJETIVOS | 21 |
| Objetivo geral..... | 21 |
| Objetivos específicos..... | 21 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 21 |
| Comissão de Ética | 21 |
| Animais | 21 |
| Animais do Grupo Séptico | 21 |
| Animais do Grupo Controle..... | 22 |
| Identificação dos cães em sepse..... | 22 |
| Triagem | 22 |
| Confirmação da sepse..... | 23 |
| Confirmação do Choque Séptico | 24 |
| Disfunção orgânica oriunda da sepse..... | 24 |
| Avaliação do risco de mortalidade em cães..... | 25 |
| Exames Clínicos | 27 |
| Exames Laboratoriais | 29 |
| Análise Estatística | 32 |
| RESULTADOS..... | 42 |
| DISCUSSÃO | 45 |
| CONCLUSÕES..... | 49 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 49 |

Resumo

A sepse é uma disfunção orgânica com risco de vida causada por uma resposta desregulada do hospedeiro frente ao agente infeccioso. O choque séptico é um subgrupo da sepse caracterizado por hipotensão arterial persistente com necessidade de uso de vasopressores. As citocinas inflamatórias liberadas na ocasião da inflamação estimulam os hepatócitos a produzir proteínas de fase aguda positivas, como a Proteína C Reativa (PCR). O objetivo geral desse trabalho foi avaliar quantitativamente a proteína C reativa sérica em cães com sepse e choque séptico. Os objetivos específicos foram avaliar a sensibilidade e especificidade da PCR para identificar sepse, correlacionar o resultado da mensuração da PCR com a pontuação dos escores SOFA, qSOFA, LqSOFA, AppleFull e AppleFast e avaliar a sua capacidade como biomarcador prognóstico nesses pacientes. Para tanto, foram selecionados 42 animais, sendo 31 em sepse e 11 saudáveis para compor o grupo controle. Foram colhidas amostras de sangue para realização dos exames laboratoriais como: hemograma, bioquímica sérica, hemogasometria venosa, hemocultura e mensuração da PCR. Materiais biológicos do foco da infecção foram colhidos e enviados ao laboratório de microbiologia para cultivo. Para a análise estatística, as comparações foram realizadas utilizando o teste de Mann-Whitney, subsequentemente, os dados da PCR sérica foram submetidos à análise de poder discriminativo por meio de curvas ROC. Com os valores de corte de PCR para mortalidade, a taxa de sobrevivência nos animais acima e abaixo do valor de corte foi comparada pelo método de sobrevivência de Kaplan Meier. Por fim, realizou-se a análise de correlação pelo teste de Spearman entre os níveis séricos de PCR e os valores obtidos nas escalas SRIS, qSOFA, SOFA, APPLEfast e APPLEfull. A PCR demonstrou alta sensibilidade e especificidade para diagnóstico de sepse em cães suspeitos que apresentem concentrações séricas maiores que 12,5mg/L. Quando associado às escalas SRIS, qSOFA, LqSOFA, SOFA, *APPLEFull* e *APPLEFast*, as concentrações de PCR podem ser utilizadas para prever mortalidade por meio da Síndrome de Múltipla Disfunção Orgânica.

Palavras-chave: inflamação, SRIS, infecção, canina, SOFA

Abstract

Sepsis is a life-threatening organ dysfunction caused by a dysregulated host response to an infectious agent. Septic shock is a subgroup of sepsis characterized by persistent hypotension requiring vasopressors. Inflammatory cytokines released during inflammation stimulate hepatocytes to produce positive acute phase proteins, such as C-reactive protein (CRP). The general objective of this study was to quantitatively evaluate serum C-reactive protein in dogs with sepsis and septic shock. The specific objectives were to evaluate the sensitivity and specificity of CRP to identify sepsis, to correlate the CRP measurement result with the SOFA, qSOFA, LqSOFA, AppleFull and AppleFast scores and to evaluate its ability as a biomarker to predict these patients. Blood samples were collected for laboratory tests such as: complete blood count, serum biochemistry, venous blood gas analysis, blood culture and CRP measurement. Biological materials from the focus of infection were collected and sent to the microbiology laboratory for cultivation. For statistical analysis, comparisons were performed using the Mann-Whitney test, and then serum CRP data were subjected to discriminative power analysis using ROC curves. Using the CRP cutoff values for mortality, the survival rate in animals above and below the cutoff value was compared using the Kaplan Meier survival method. Finally, a brightness analysis was performed using the Spearman test between serum CRP levels and the values obtained on the SRIS, qSOFA, SOFA, APPLEfast, and APPLEfull scales. CRP demonstrates high sensitivity and specificity for diagnosing sepsis in suspected dogs with serum concentrations greater than 12.5 mg/L. When associated with the SRIS, qSOFA, LqSOFA, SOFA, APPLEFull and APPLEFast scales, CRP concentrations can be used to prevent mortality from Multiple Organ Dysfunction Syndrome

Keywords: inflammation, SIRS, infection, canine, SOFA

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

Definida como uma síndrome de anormalidades fisiológicas, patológicas e bioquímicas induzidas por uma infecção, a sepse é uma disfunção do organismo com risco de vida causada por uma resposta desregulada do hospedeiro frente ao agente infeccioso. Por outro lado, o choque séptico corresponde a um subgrupo da sepse, caracterizado por hipotensão arterial persistente após a reposição volêmica com necessidade de uso de vasopressores para manter a Pressão Arterial Média (PAM) ≥ 65 mmHg e/ou hiperlactatemia (>3 mg/dL) (Singer *et al.*, 2016).

Na medicina, estudos mostram que esta síndrome é a maior causa de morte no mundo, levando aproximadamente 11,4 pessoas a óbito por minuto (W.H.O., 2017). No decorrer da sepse, o sistema imune é estimulado a responder de forma exagerada, especialmente quando há envolvimento bacteriano, pois os lipopolissacarídeos (LPS) liberados da parede celular destes microrganismos (Hagman *et al.*, 2009), fazem com que as células desencadeiem uma resposta inflamatória por meio dos receptores *Toll-like* (TLRs) que induzem a produção de citocinas inflamatórias (Kawai e Akira, 2010).

As citocinas liberadas na ocasião da inflamação, como Fator de Necrose Tumoral (TNF), Interferon- γ (INF- γ), Interleucina-1 (IL-1) e principalmente a Interleucina-6 (IL-6) (Aninat *et al.*, 2008), estimulam os hepatócitos a produzirem proteínas de fase aguda, como a Proteína C Reativa (PCR) (Murata *et al.*, 2004; Ekersall *et al.*, 2010); (Cerón *et al.*, 2005), pertencente à família das pentraxinas, envolvidas com a resposta imune inata (Garrido *et al.*, 2015).

Amplamente utilizada na medicina humana como biomarcador de sepse (Ventetuolo e Levy, 2008), a PCR apresenta boa estabilidade por não sofrer influência medicamentosa, a menos que se trate de fármacos que suspendam o insulto inflamatório e/ou infeccioso e em casos de falência hepática (Pepys e Hirschfield, 2003; Ho e Lipman, 2009; Vincent *et al.*, 2011). Da mesma maneira, não é afetada pelo estresse, como acontece com outros biomarcadores (Paul *et al.* 2011; McClure *et al.* 2013). A satisfatória cinética somada ao baixo custo e facilidade de mensuração, leva a sugerir que a PCR pode demonstrar bons resultados no contexto de infecções e sepse (Ventetuolo e Levy, 2008).

REVISÃO DE LITERATURA

Proteína C Reativa (PCR)

A PCR foi primeiramente descrita em 1930, na ocasião de uma pesquisa em pacientes infectados pela bactéria gram-positiva *Streptococcus pneumoniae*. A origem do seu nome ocorreu devido a sua capacidade em reagir com o polissacarídeo capsular (C) do *Streptococcus* (Tillett e Francis, 1930). Trata-se de uma proteína pentamérica que possui cinco subunidades idênticas unidas por ligações não covalentes e peso molecular de aproximadamente 100kDa (Jasensky *et al.* 2014).

A PCR é uma proteína de fase aguda sintetizada principalmente pelo fígado, elevando seus valores basais na presença de infecções, traumas ou danos teciduais sob estímulo de mediadores inflamatórios, destacando-se a IL-6, mas também pode aumentar em resposta à IL-1, IL-17 (Eklund, 2009), TNF e INF- γ (Aninat *et al.* 2008). Sabe-se que, além dos hepatócitos, outras células são capazes de produzir PCR, como células endoteliais (Pasceri *et al.* 2000), miócitos (Calabró *et al.* 2003), células do sistema monocítico fagocitário (Devaraj *et al.* 2005), linfócitos e adipócitos (Calabró *et al.* 2003), podendo contribuir para a manutenção do valor basal fisiológico.

As concentrações de PCR dependem da intensidade do estímulo inflamatório mediado por interleucinas (Póvoa *et al.* 1998; Takala *et al.* 2002), podendo ser notada uma elevação rápida e significativa em pouco tempo na presença de infecções, como na endotoxemia por *E. coli*, com valor máximo atingido dentro de 24h a 48h (Ceron *et al.*, 2005). A intensidade do aumento da PCR está diretamente relacionada à gravidade do estado patológico, bem como da permanência da inflamação (Paul *et al.*, 2011; Schmidt e Eckersall, 2015). Um decréscimo igualmente acelerado é identificado quando o estímulo inflamatório e/ou infeccioso cessa (Pepys e Hirschfield 2003).

Nota-se que, mesmo diante da sua inespecificidade, a PCR apresenta boa estabilidade, sendo afetada em raras situações. Dentre elas, destacam-se os pacientes com falência hepática, onde o seu valor estará subestimado (Pepys e Hirschfield 2003). Ross e Ballou (2023), ao avaliarem a confiabilidade da PCR em pacientes hepatopatas com doença inflamatória imunomediada, descobriram que estes indivíduos apresentaram níveis séricos de PCR mais

baixos durante a fase aguda da doença, podendo ser decorrente da perda de massa hepática funcional.

Papel da Proteína C Reativa como biomarcador na sepse

As pesquisas acerca da PCR demonstram resultados favoráveis quando explorada em condições sépticas. Ela possui alta sensibilidade, mas baixa especificidade quando comparada a outros biomarcadores (Danesh *et al.* 2004), todavia Godínez-Vidal (2020) e outros sustentam que, em humanos, o valor de PCR aumentou significativamente nos pacientes em sepse que evoluíram a óbito, demonstrando um resultado médio duas vezes maior nos indivíduos que não sobreviveram em comparação com os sobreviventes. Da mesma forma, um estudo realizado em cães verificou que a PCR demonstrou bom valor para monitorar o prognóstico de animais em Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SRIS), revelando um aumento significativo nas primeiras vinte e quatro horas de infecção (Ribeiro, 2021).

Para Gebhardt e colaboradores (2009), apesar de não ter sido possível constatar uma diferença significativa entre sepse e SRIS asséptico, a PCR se mostrou mais elevada nos cães com sepse. Além disso, alguns dos pacientes sépticos que permaneceram vivos ao final do prazo do estudo, demonstraram uma diminuição abrupta no valor da PCR, o que não aconteceu com os casos que evoluíram para óbito, sugerindo que a medição seriada da PCR, associada a parâmetros hematológicos e clínicos, pode ser útil na estimativa da sobrevivência dos cães acometidos, bem como na avaliação da gravidade do caso (Gebhardt *et al.* 2009).

Conforme exposto por Ruggerone e outros (2021) num estudo retrospectivo que avaliou a importância da PCR e da enzima Paraoxonase 1 (PON1) na diferenciação de cães em sepse, cães com inflamação asséptica e cães saudáveis, certificaram que a PCR esteve significativamente maior nos animais em sepse quando comparado aos dois outros grupos. Por outro lado, a PON1 esteve consideravelmente menor no grupo séptico. Estes resultados foram ainda mais intensos nos casos que foram a óbito, demonstrando que a avaliação da PCR e PON1 no momento da admissão do paciente parece ser um suporte confiável para diagnosticar sepse e prever resultados (Ruggerone *et al.*, 2021).

Não há relatos do desenvolvimento de sepse em cães por agentes etiológicos que não sejam bactérias. Nota-se que vírus e protozoários também possuem a capacidade de aumentar a PCR (Paul *et al.* 2011), assim como inflamações sem envolvimento de microrganismos, legitimando sua baixa especificidade e destacando que se trata de uma proteína que não deve ser interpretada isoladamente (Malin e Witkowska-Piłaszewicz, 2022), ainda que seja notado um resultado exorbitante no seu valor em pacientes sépticos (Anziliero *et al.* 2013).

Função de um biomarcador

Biomarcadores são moléculas, proteínas ou outras substâncias mensuráveis liberadas naturalmente por meio de processos fisiológicos ou patológicos específicos. Idealmente, espera-se que um bom biomarcador atenda demandas relacionadas à rápida cinética, alta sensibilidade e especificidade, possibilidade de ser dosado por tecnologia totalmente automatizada, tempo curto de resposta, possibilidade de ser empregado no pronto atendimento e ser financeiramente acessível (Cohen *et al.*, 2015).

Os marcadores diagnósticos podem apresentar potencial para diferenciar sepse de doença crítica não séptica, possibilitando a diminuição no uso indiscriminado de antibióticos (Bochud *et al.*, 2001; Bochud *et al.*, 2004). Por outro lado, os marcadores prognósticos auxiliam na previsão de resultados em pacientes com sepse confirmada, atribuindo perfis de risco (Sims *et al.*, 2016).

Muitos biomarcadores propostos no contexto de sepse na medicina veterinária dependem de análises laboratoriais e são dispendiosos, impossibilitando que sejam empregados a beira leito. Percebe-se então, uma urgência em buscar uma ferramenta de triagem que permita a geração de resultados rápidos ao mesmo tempo em que possua a capacidade de identificar indivíduos em sepse.

A acurácia diagnóstica da PCR a beira leito pela técnica de FIA (Imunoensaio Fluorescente) em cães com sepse ainda não foi testada. Seu poder prognóstico associado a outros parâmetros igualmente rápidos e fáceis de serem dosados podem ser utilizados na urgência e emergência com o

intuito de facilitar a identificação precoce da sepse na espécie canina ao mesmo tempo em que atende a realidade financeira da população.

Escalas de pontuação utilizadas no contexto de sepse

Há anos se discute a necessidade de haver uma padronização no conceito de sepse (Bone *et al.* 1992; Levy *et al.*, 2003; Singer *et al.*, 2016) devido a gravidade que o quadro clínico apresenta, sendo uma importante causa de mortalidade e morbidade em animais e humanos (Silverstein, 2012; Gotts e Matthay, 2016) e pela necessidade em se estabelecer um método diagnóstico padrão. Na medicina veterinária observa-se que, por muito tempo, a única ferramenta utilizada foram os critérios de SRIS (Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica) associado à infecção (Machado *et al.*, 2016; Fang *et al.*, 2017).

O desafio na identificação de pacientes em sepse é relatado na literatura humana (Chamberlain *et al.*, 2015; Smyth *et al.*, 2016). O qSOFA (*quick Sepsis-related Organ Failure Assessment*), uma escala composta por três parâmetros clínicos, muito utilizado na medicina em pacientes em permanência prolongada na UTI (Unidade de Terapia Intensiva), no contexto de sepse confirmada ou suspeita (Sprung *et al.*, 2016), é utilizado na medicina veterinária como auxílio na triagem de cães sépticos, mas apresenta baixa sensibilidade, sendo um bom recurso para identificar indivíduos com risco de óbito, mas não obrigatoriamente em sepse (Singer *et al.*, 2016). Embora o qSOFA seja mais específico que o SRIS, não há validação na medicina veterinária (Castro e Rabelo, 2017) e se apresenta menos sensível do que ter dois dos quatro critérios SRIS para identificação precoce de disfunção orgânica induzida por infecção (Fernando *et al.*, 2018; Cinel *et al.*, 2020).

Conforme descrito nas Diretrizes Internacionais para o Gerenciamento de Sepse e Choque Séptico (2021), uma campanha de sobrevivência a sepse em humanos, o clínico intensivista deve conhecer as limitações do qSOFA e recomenda fortemente que o score não seja usado como ferramenta única para triagem. Em vista disso, ainda que no Sepsis-3 o lactato não tenha atingido os limites estatísticos para ser incluído, sugeriu-se que a combinação das três variáveis do qSOFA, somada a concentração plasmática de lactato

(*quick Sequential Organ Failure Assessment with lactate* – LqSOFA) (Martín-Rodríguez *et al.*, 2020), melhoraria significativamente a capacidade de identificação de pacientes em risco (Kashyap *et al.*, 2021), poderia antecipar o reconhecimento da sepse e conseqüentemente reduzir a mortalidade e morbidade (Gill *et al.*, 2022).

Estudos afirmam que os critérios de SRIS também não devem ser utilizados de forma isolada em pacientes com suspeita de sepse (Evans *et al.*, 2021). Sabe-se que existe a possibilidade do desenvolvimento de SRIS asséptico, podendo alterar seus parâmetros simplesmente devido a um processo inflamatório exacerbado. Além disso, 12,5% dos pacientes com infecção e disfunção orgânica não chegarão a alterar dois ou mais critérios de SRIS (Kaukonen *et al.*, 2015; Singer *et al.*, 2016). Todavia, o terceiro consenso internacional para sepse e choque séptico (2016) em humanos, enfatizou que os critérios SRIS, ainda que não mais recomendado na sepse, podem permanecer úteis para identificar infecção.

Na última década, assumiu-se que a sepse é responsável por ativar, de forma precoce, respostas pró e anti-inflamatórias (Hotchkiss *et al.*, 2013), gerando danos progressivos no tecido que evoluem para Síndrome da Disfunção de Múltiplos Órgãos (SDMO) (Tang *et al.*, 2010; Tamayo *et al.*, 2011; Singer *et al.*, 2016). Em razão disso, escalas de pontuação que avaliam a função de diversos sistemas orgânicos foram propostas e estudadas.

O escore SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*), pendente de validação em cães, passou a ser usado na UTI por ter apresentado melhor validade preditiva que os parâmetros de SRIS (Seymour *et al.*, 2016), mas a escolha dos métodos para avaliar disfunção orgânica é questionável. Além disso, não obrigatoriamente uma disfunção é decorrente de um processo infeccioso, visto que várias outras condições não infecciosas cursam com disfunção orgânica (Fang *et al.*, 2017).

O *Logistic Organ Dysfunction System* (LODS), proposto em 1996 (Le Gall *et al.* 1996), semelhantemente ao SOFA, foi estabelecido para avaliar a gravidade da disfunção orgânica, tendo pontuações mais altas ao analisar o sistema nervoso, cardíaco e renal. No estudo retrospectivo de Li e colaboradores (2020), em humanos, que analisou a relação das pontuações de qSOFA, SOFA e LODS no prognóstico de pacientes sépticos, verificaram que

LODS e SOFA têm maior precisão para prever o prognóstico dos pacientes quando comparado ao qSOFA, mas não são indicados em contextos de emergência (Li *et al.* 2020).

O *Royal College of Physicians*, com o intuito de estabelecer um padrão, propôs o *National Early Warning Score* (NEWS), que embora possua sete parâmetros clínicos, admitiu-se que muitos outros igualmente importantes não foram incluídos, sendo recomendado que sua eficácia seja testada em novos estudos. Corfield e outros (2012), num estudo retrospectivo com indivíduos com suspeita de sepse, demonstrou que um NEWS com pontuação ≥ 5 foi 88% sensível e 29% específico para prever admissão na UTI e/ou mortalidade.

O *Modified Early Warning Score* (MEWS) utiliza uma metodologia voltada para identificar pacientes fora da UTI, que eventualmente possam evoluir para cuidados intensivos e pode, inclusive, sinalizar indivíduos com prognóstico ruim (Subbe *et al.*, 2001). No estudo de Usul e colaboradores (2021), que objetivaram avaliar se qSOFA e MEWS poderiam ser usados antes da admissão hospitalar, no ambiente de atendimento médico e se estes possuíam a capacidade de prever mortalidade, o qSOFA foi considerado mais valioso do que o MEWS na determinação do prognóstico de sepse antes da hospitalização (Usul *et al.*, 2021).

A Pontuação de Avaliação Fisiológica e Laboratorial do Paciente Agudo (APPLE) foi desenvolvida para estimar a taxa de mortalidade de cães em sepse com base em variáveis obtidas no momento da admissão hospitalar. Dividida em duas escalas, uma completa (APPLE *full*), contendo dez variáveis e outra imediata (APPLE *fast*), contendo cinco (Hayes *et al.*, 2010). No trabalho de Pashmakova e outros (2014), que estudaram cães com SRIS e sepse, verificou-se que a pontuação APPLE *fast* foi a única variável associada à não sobrevivência.

OBJETIVOS

Objetivo geral

- Avaliar quantitativamente a proteína C reativa sérica em cães com sepse e choque séptico.

Objetivos específicos

- Avaliar a sensibilidade e especificidade da proteína C reativa para identificar sepse.
- Correlacionar o resultado da mensuração de proteína C reativa com a pontuação dos escores SOFA, qSOFA, LqSOFA, *AppleFull* e *AppleFast*.
- Avaliar a capacidade da proteína C reativa como biomarcador prognóstico nos pacientes em sepse.

MATERIAL E MÉTODOS

Comissão de Ética

Essa pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”), Campus Botucatu, São Paulo, sob o protocolo 000.183.

Animais

Animais do Grupos Séptico

Foram selecionados 31 cães atendidos no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) na UNESP, Botucatu, São Paulo, machos e fêmeas, de 3 meses de idade até 17 anos, que apresentaram infecção clinicamente documentada ou suspeita, somada a alterações clínicas, hematológicas, bioquímicas e isolamento microbiológico que confirmaram a sepse e/ou choque séptico (GSEP). Os tutores foram consultados, informados e esclarecidos de todos os detalhes deste estudo e a concordância da execução das etapas do processo foi firmado por meio da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice I).

Animais do Grupo Controle

Foram selecionados 11 cães hígidos do Banco de Sangue Canino do Laboratório Clínicos Veterinário (LCV), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) na UNESP, Botucatu, São Paulo, para serem usados no Grupo Controle (GCON). Todos os animais passaram por exames físicos e clínicos, bem como anamnese, aferição da pressão sistólica, aferição da temperatura retal, frequência cardíaca, frequência respiratória e avaliação do estado de consciência. Para a realização dos exames laboratoriais, bem como hemograma, bioquímica sérica, hemogasometria venosa e mensuração da proteína C reativa, foi realizado jejum alimentar de oito horas antes da colheita de sangue. Nenhum indivíduo passou por privação de água.

Foram excluídos do grupo controle todos os animais com idade inferior a 1 ano e superior a 8 anos, histórico de doenças e os que apresentaram qualquer alteração clínica ou em exames laboratoriais. Os tutores foram consultados, informados e esclarecidos de todos os detalhes deste estudo e a concordância da execução das etapas do processo foi firmado por meio da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice I).

Identificação dos cães em sepse

Triagem

No momento do atendimento clínico, os animais com suspeita de infecção foram triados por meio do qSOFA (*quick Sepsis-related Organ Failure Assessment*), do LqSOFA (*quick Sequential Organ Failure Assessment with lactate*) e dos parâmetros SRIS (Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica). O qSOFA (Tabela 1) é uma escala com três parâmetros clínicos elaborada com o intuito de identificar pacientes em risco de sepse (Churpek *et al.* 2017; Seymour *et al.* 2016), composta por pressão sistólica (PAS ≤ 100 mmHg), frequência respiratória (FR ≥ 22 rpm) e alteração de consciência (Escala do Coma de Glasgow < 15). O LqSOFA corresponde ao qSOFA adicionado de lactato (Tabela 2). Os parâmetros de SRIS (Tabela 3) avaliam a temperatura retal (°C) ($< 38,1$ ou $> 39,2$), frequência cardíaca (> 120 bpm), frequência respiratória (> 20 rpm), número de leucócitos totais (leucócitos totais

<6.000/ μ L ou >16.000/ μ L e porcentagem de bastonetes (>3%). Resultados ≥ 2 tanto no qSOFA, LqSOFA quanto nos critérios de SRIS, foi considerado um forte indicativo da presença de sepse, que foi posteriormente confirmada por meio de isolamento microbiológico positivo.

Tabela 1. Critérios do qSOFA (*quick Sepsis-related Organ Failure Assessment*) para a espécie canina

| | |
|-------------------------------|----------|
| PAS mmHg | <100 |
| Frequência respiratória (rpm) | >22 |
| Escala do Coma de Glasgow | <15 |
| Triagem Positiva | ≥ 2 |

Fonte: (Adaptado de Singer *et al.*; 2016)

Tabela 2 Critérios do LqSOFA (*quick Sequential Organ Failure Assessment with lactate*) para a espécie canina

| | |
|-------------------------------|----------|
| PAS mmHg | <100 |
| Frequência respiratória (rpm) | >22 |
| Escala do Coma de Glasgow | <15 |
| Lactato (mmol/L) | >2 |
| Triagem Positiva | ≥ 2 |

Fonte: (Martín-Rodríguez *et al.*, 2020)

Tabela 3. Critério SRIS (Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica) para a espécie canina

| | |
|---|------------------|
| Temperatura (TR °C) | < 38,1 ou > 39,2 |
| Frequência cardíaca (bpm) | > 120 |
| Frequência respiratória (rpm) | >20 |
| Leucócitos ($\times 10^3$); %bastonetes | < 6 ou > 16; >3% |
| SRIS Positivo | ≥ 2 |

Fonte: Costello (2010); Silverstein e Sanotoro-Beer (2012).

Confirmação da sepse

Foram diagnosticados com sepse os cães triados por meio do qSOFA e parâmetros SRIS que apresentaram um foco infeccioso confirmado por meio de cultura microbiológica e/ou Reação da Cadeia Polimerase ou clinicamente suspeito.

Confirmação do Choque Séptico

Foram considerados em choque séptico, os pacientes em sepse com hipotensão, que apresentaram ou não hiperlactatemia (Lactato >3 mmol/L), que após a prova de carga (Ringer Lactato em 15mL/kg por 15 minutos), não reestabeleceram a pressão normal e precisaram fazer uso de vasopressores.

Disfunção orgânica oriunda da sepse

Para avaliar a disfunção orgânica causada pela sepse, foram utilizados os escore SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*) (Tabela 4) adaptado para a espécie canina (Ripanti *et al.* 2012), que consiste no cálculo dos resultados da avaliação funcional de seis sistemas orgânicos, bem como sistema respiratório (relação entre a pressão parcial arterial de oxigênio e a fração inspirada deste gás), coagulação (contagem de plaquetas no sangue), hepático (níveis séricos de bilirrubina total), renal (concentração sérica de creatinina), cardiovascular (pressão arterial sistólica) e sistema nervoso central (escala do coma de Glasgow). Dois dos seis sistemas não foram utilizados na presente pesquisa, sendo a avaliação da respiração e cardiovascular, pois não foram colhidas amostras de sangue arterial e não foi aferida a pressão arterial média.

Tabela 4. Escore *SOFA* (*Sequential Organ Failure Assessment*) adaptado à espécie canina (Ripanti *et al.*, 2012).

| Parâmetros | Pontuação | | | | |
|---|-----------|-------|---------|---------|-------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Respiração | - | - | - | - | - |
| PaO ₂ /FiO ₂ (mmHg) | | | | | |
| Coagulação | >150 | ≤150 | ≤100 | ≤50 | ≤20 |
| Plaquetas (x100/μl) | | | | | |
| Fígado | <0,6 | 0,6- | 1,5-5,0 | 5,1-11 | >11,1 |
| Bilirrubina total (mg/dl) | | 1,4 | | | |
| Cardiovascular | - | - | - | - | - |
| PAM (mmHg) | | | | | |
| SNC | 15 | 13-14 | 10-12 | 6-9 | <6 |
| Escore de coma Glasgow | | | | | |
| Renal | <1,4 | 1,4- | 2,0-3,4 | 3,5-4,9 | >5,0 |
| Creatinina (mg/dL) | | 1,9 | | | |

*Com suporte respiratório; PAS = pressão arterial sistólica, quando <65 mmHg; NE= Norepinefrina (μg/kg/min), EP= Epinefrina, DOB= dobutamina, VP= Vasopressina, agentes vasopressores ou inotrópicos administrados pelo menos uma hora.

Avaliação do risco de mortalidade em cães

Para avaliar o risco de mortalidade nos pacientes em sepse e choque séptico, foram utilizados os modelos prognósticos *Apple Score* (*Acute Patient Physiologic and Laboratory Evaluation*), sendo o *AppleFast* e o *AppleFull*. O *AppleFast* é determinado a partir da avaliação da glicemia, albumina, lactato, contagem de plaquetas e alteração de consciência (Quadro 1). O *AppleFull* gera pontuações ao avaliar níveis de creatinina, contagem total de leucócitos, albumina, SpO₂ (saturação arterial de oxigênio), bilirrubina total, alteração de consciência, frequência respiratória, idade, escore de líquido livre e lactato (Quadro 2) (Hayes *et al.*, 2010).

Quadro 1. AppleFast (Acute Patient Physiologic and Laboratory Evaluation Fast)

| Analitos | Pontuação | | | | | | | | | |
|--------------------------------------|------------------------|-------------------|-------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|
| | Glicose (mg/dL) | 0 > 273 | | | | | 7 < 84 | 8 84 - 102 | 9 103 - 164 | 10 165 - 273 |
| Albumina (g/dL) | 0 3,3 – 3,5 | | 2 > 3,5 | | 6 3,1 – 3,2 | 7 2,6 - 3,0 | 8 < 2,6 | | | |
| Lactato (mmol/L) | 0 < 2 | | | 4 2 - 8 | | | 8 8 - 10 | | 12 > 10 | |
| Plaquetas (x10³/L) | 0 261- 420 | 1 > 420 | | 3 201 - 260 | | 5 <151 | 6 151 – 200 | | | |
| Nível de Consciência | | | | 4 1 | | 6 2 | 7 3 | | 14 4 | |
| Pontuação Máxima: 50 pontos | | | | | | | | | | |

Fonte: Hayes *et al.*, 2010

Quadro 2. AppleFull (Acute Patient Physiologic and Laboratory Evaluation Full)

| Analitos | Pontuação | | | | | | | | | |
|--|------------------|-------------|----------|------------|------------------|------------|-------------|----------|-----------|-----------|
| Creatinina (mg/dL) | 0 | 1 | | | | | 8 | 9 | | |
| | 0 – 0,62 | 0,63 – 1,35 | | | | | 1,36 – 2,26 | > 2,26 | | |
| Leucócitos Totais (x10⁹/L) | 0 | | 2 | 3 | | | | 9 | | |
| | 5,1 – 8,5 | | 8,6 - 18 | > 18 | | | | <5,1 | | |
| Albumina (g/dL) | 0 | | 2 | | | 6 | 7 | | 9 | |
| | 3,3 – 3,5 | | >3,5 | | | < 2,6 | 2,6 – 3,0 | | 3,1 – 3,2 | |
| SpO2 (%) | 0 | 1 | | 4 | | | | | 10 | |
| | 98 - 100 | 95 - 97 | | 90 - 94 | | | | | < 90 | |
| Bilirrubina Total (mg/dL) | 0 | | 3 | 4 | | 6 | | | | |
| | 0 – 0,23 | | > 0,93 | 0,47 -0,93 | | 0,24 -0,46 | | | | |
| Nível de Consciência | 0 | | | | 5 | | 7 | 8 | | 13 |
| | 0 | | | | 1 | | 2 | 3 | | 4 |
| Frequência Respiratória (rpm) | 0 | | 3 | | 5 | 6 | | | | |
| | < 25 | | 25 - 36 | | 37 – 48 (ou >60) | 49 - 60 | | | | |
| Idade (anos) | 0 | | | | 6 | 7 | 8 | | | |
| | 0 - 2 | | | | 3 - 5 | > 8 | 6 - 8 | | | |
| Líquido Livre | 0 | | 3 | 4 | | | | | | |
| | 0 | | 2 | 1 | | | | | | |
| Lactato (mmol/L) | 0 | | 2 | 3 | | 6 | | | | |
| | 0 – 1,9 | | 2,0 -7,9 | 8,0 – 11,0 | | >11 | | | | |
| Pontuação Máxima: 80 pontos | | | | | | | | | | |

Fonte: Hayes *et al.*, 2010

Exames Clínicos

O exame físico e anamnese foram realizados seguindo o protocolo estabelecido pelo Hospital Veterinário da FMVZ, UNESP, Botucatu, São Paulo (Apêndice II), que segue as seguintes referências: Chew *et al.* (2011); Ettinger *et al.*, (2009); Feitosa (2014); Jericó *et al.*, (2014); Nelson e Couto (2015) e Rabelo (2013).

Aferição da Pressão Arterial Sistólica - PAS (mmHg)

A aferição da pressão arterial sistólica (PAS) foi obtida por Doppler vascular (DV610V®, Medmega, São Paulo), posicionado na artéria metacarpiana e manguito vasoconstritor de tamanho apropriado posicionado no membro torácico do paciente. Foram realizadas sete aferições, onde os dois valores que demonstraram discrepância (valores altos e baixos) foram descartados e a pressão arterial sistólica foi definida por meio do cálculo médio das cinco aferições restantes, conforme o protocolo estabelecido pelo setor de Clínica Veterinária do Hospital Veterinário (HV) da FMVZ, UNESP, Botucatu, SP.

Avaliação do estado de Consciência

A avaliação do estado de consciência utilizada nos escores qSOFA e SOFA foi obtida mediante a Escala de Coma Glasgow (EGC) adaptada para a espécie canina (Andrade *et al.*, 2001), elaborada para propor consistente avaliação clínica do nível de consciência dos pacientes com dano cerebral (Apêndice III). A escala foi aplicada para analisar indicadores como: abertura ocular, melhor resposta associada à vocalização e melhor resposta motora.

A avaliação do estado mental utilizado pelos escores de pontuação AppleFast e AppleFull foi realizado de acordo com uma pontuação de zero a quatro, que ocorreu no pronto atendimento, antes da administração de analgésicos ou sedação. As pontuações correspondem as seguintes alterações: 0: estado normal; 1: capacidade de ficar de pé sem ajuda, responsivo, mas apático; 2: consegue ficar de pé quando ajudado, é responsivo, mas apático; 3: Incapaz de ficar de pé, mas responsivo; 4: incapaz de ficar de pé, sem resposta.

Avaliação de Líquido Livre

O escore de líquido livre foi realizado por meio de avaliação ultrassonográfica, apresentando pontuação de 0 a 2. Sendo 0: Nenhum líquido livre abdominal, torácico ou pericárdico identificado; 1: Líquido livre abdominal, torácico ou pericárdico identificado; 2: Dois ou mais fluidos livres abdominais, torácicos e pericárdicos identificados.

Exames Laboratoriais

Exames Hematológicos

Os exames laboratoriais foram realizados seguindo o protocolo estabelecido pelo Laboratório Clínico Veterinário (LCV) da FMVZ, UNESP, Botucatu, São Paulo, que segue as seguintes referências: Thrall *et al.*, (2015); Stockham e Scott (2011); Meyer e Harvey (2004); Cowell *et al.*, (2008); Feldman *et al.*, (2000); Jain (1993).

Hemogasometria Venosa

Foi colhida uma amostra de 1mL de sangue obtido por punção da veia jugular com auxílio de uma agulha 30x7 acoplada a uma seringa contendo heparina de lítio com cálcio balanceado em proporção de 50 UI de heparina por mL de sangue, a fim de realizar a hemogasometria venosa: pressão parcial de oxigênio e dióxido de carbono (PaO₂ e PaCO₂ mmHg), pH, concentração venosa de bicarbonato (CaHCO₃ mEq/L), porcentagem de saturação de oxigênio (SO₂), anion gap (mmol/L), cloro (Cl⁻ mmol/L), potássio (K⁺ mmol/L), sódio (Na⁺ mmol/L), cálcio ionizado (iCa mmol/L) e Lactato (mmol/L). As análises foram realizadas por meio do analisador automático de gases sanguíneos (OMNI C®, Roche Diagnostics GmbH, Alemanha).

Hemograma

Foi colhida uma amostra de 0,5mL de sangue obtido por punção da veia cefálica com auxílio de uma agulha 30x7 acoplada a uma seringa, que posteriormente foi transferido para um tubo contendo EDTA K3 (*ethylenediamine tetraacetic acid*) para realizar o eritrograma, leucograma e trombograma. Utilizou-se, como auxílio, o analisador hematológico automático (ABX Micros ESV 60, Horiba® Medical, São Paulo).

Bioquímica Sérica

Foi colhida uma amostra de 2mL de sangue obtido por punção da veia cefálica com auxílio de uma agulha 30x7 acoplada a uma seringa, que posteriormente foi transferido para um tubo sem anticoagulante e centrifugado a 3.000rpm por 10 minutos para a obtenção do soro sanguíneo. Assim sendo,

foi realizada a mensuração da bilirrubina total, bilirrubina direta, bilirrubina indireta, proteínas totais, albumina, globulina, ALT (alanina aminotransferase), FA (fosfatase alcalina), GGT (gama glutamil transferase), creatinina, ureia, fósforo, triglicérides, colesterol total, ferro, frutossamina e magnésio. As análises foram realizadas por meio de um espectrofotômetro automático (Cobas Mira Plus® da Roche), utilizando kits comerciais de reagentes (Bioclin® e LaborLab®) obedecendo as orientações do fabricante e seguindo o protocolo estabelecido pelo Laboratório Clínico Veterinário (LCV), da FMVZ, UNESP, Botucatu, SP.

Glicemia

A mensuração de glicose de cada paciente ocorreu no pronto atendimento por meio do glicosímetro e tiras de teste Accu-Chek® Active. O equipamento apresenta uma faixa de medição entre 10 a 600mg/dL de glicose e a quantidade de amostra necessária utilizada (sangue total) foi de aproximadamente 1 a 2µL (1 gota).

Deteção quantitativa da Proteína C Reativa

Parte do soro obtido para realizar a bioquímica sérica foi separado em eppendorf e congelado a -80°C, tanto dos cães em sepse quanto dos animais do grupo controle, para mensurar a PCR. O equipamento utilizado para a deteção quantitativa da PCR foi o VCHECK V200, que emprega o método de Imunoensaio Fluorescente (FIA).

O teste possui sensibilidade para detectar uma concentração mínima de proteína C reativa de 10mg/L e máxima de 200mg/L. O aparelho passou por uma etapa de calibração usando padrões e materiais de controle de qualidade fornecidos pelo fabricante previamente ao início a mensuração da PCR. O exame foi realizado no Laboratório Clínico Veterinário (LCV) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Botucatu, São Paulo.

Uma alíquota de 5µL de soro de cada animal foi coletado com auxílio de uma micropipeta devidamente calibrada. Posteriormente, transferiu-se a amostra para um frasco contendo o tampão diluente e essa solução foi

homogeneizada. Uma amostra de 100µL dessa solução foi pipetada e transferida para a cavidade de amostra do equipamento e logo em seguida procedeu-se o início à leitura. O resultado da mensuração de PCR foi disponibilizado na tela do aparelho após cinco minutos da amostra ter sido inserida.

Exames microbiológicos

Os exames microbiológicos foram realizados seguindo o protocolo estabelecido pelo Laboratório de Diagnóstico Microbiológico da FMVZ, UNESP, Botucatu, São Paulo, que segue as seguintes referências: Andrade (2008); Manual Técnico do MAPA (PNCEBT 2020); Corrêa e Corrêa (1992); Sykes (2022); Jericó et al., (2015); Mandell et al., (2005); Tizard (2004).

Hemocultura

O sangue colhido previamente para realizar a hemogasometria, foi reaproveitado para a hemocultura. Em todos os pacientes triados para sepse, deu-se preferência para a colheita de sangue no pico febril. Antes da colheita, o local passou por prévia tricotomia e antissepsia realizada com álcool a 70%, de quatro a cinco vezes, até ser possível visualizar limpa, a gaze utilizada nesse processo.

A amostra foi levada para o laboratório de microbiologia imediatamente após a realização da hemogasometria, em caixas isotérmicas contendo gelo seco, cuja temperatura se manteve, aproximadamente, entre 4°C a 8°.

As etapas do processamento da amostra foram realizadas conforme o que foi descrito por Chiari *et al.* (1979) e Luz *et al.* (1994).

Cultivo Microbiológico e Antibiograma

Foram cultivados materiais biológicos dos animais em sepse, colhidos do local de suspeita da infecção, transferidas para um recipiente estéril, e transportadas até o laboratório de microbiologia no prazo máximo de 48 horas pós-colheita, em caixas isotérmicas contendo gelo seco, cuja temperatura se manteve aproximadamente entre 4°C a 8°C. Para as amostras de urina e feridas, utilizaram-se meios de cultura *Stuart*.

No laboratório, as amostras foram cultivadas em meios convencionais (ágar sangue) e seletivos (ágar MacConkey) em condições de aerobiose, microaerofilia ou anaerobiose, mantidos em diferentes temperaturas e tempos de incubação, conforme a suspeita diagnóstica.

Todos os isolados de origem bacteriana foram submetidos a testes de sensibilidade *in vitro* (difusão com discos e em fitas) diante de diferentes antimicrobianos, com base em metodologias padrão (CLSI, EUCAST, BrCAST).

Reação da Cadeia Polimerase

Para os cães em sepse, cuja doença etiológica suspeita foi a parvovirose, foram colhidas amostras de fezes frescas, diretamente do reto com auxílio de um *swab* estéril sem conservante, para realizar a Reação da Cadeia Polimerase, permitindo a detecção de ácidos nucleicos (DNA) do *parvovírus canino* e a quantificação dos mesmos, seguindo o que foi descrito por Navarro *et al.* 2020.

Análise Estatística

A análise estatística foi realizada por meio do software GraphPad Prism (Versão 8.0.1). Inicialmente foram comparados os valores da concentração sérica de PCR entre cães saudáveis (GCON) e diagnosticados com sepse (GSEP). Posteriormente, entre os animais em sepse (GSEP) e aqueles com choque séptico (GCHOQ). Por fim, foi realizada uma comparação entre os animais que receberam alta e os que morreram nos 60 dias de avaliação. Estas comparações foram realizadas utilizando o teste de Mann-Whitney. Subsequentemente, os dados da PCR sérica foram submetidos à análise de poder discriminativo (GCON vs. GSEP; GSEP vs. GCHOQ; sobreviventes vs. óbito) por meio de curvas ROC (característica operativa del receptor), calculado o valor de corte (VC), sensibilidade e especificidade, utilizando o modelo de regressão logística. Posteriormente, com os valores de corte de PCR para mortalidade, a taxa de sobrevivência nos animais acima e abaixo do valor de corte foram comparadas pelo método de sobrevivência de Kaplan Meier. Finalmente, realizou-se a análise de correlação entre os níveis séricos de PCR

e os valores obtidos nas escalas SRIS, qSOFA, SOFA, APPLEfast e APPLEfull pelo teste de Spearman. O coeficiente de correlação (r) foi considerado para determinar a força de correlação, sendo classificada como muito fraca (r = 0 a 0,19), fraca (r = 0,2 a 0,39), moderada (r= 0,4 a 0,59), forte (r = 0,6 a 0,79) e muito forte (r = 0,8 a 1,0). A significância foi fixada para todos os testes como p<0,05 e os dados se apresentam como a mediana ± o intervalo interquartil (IQR), proporções ou relações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aninat C.; Seguin P., Descheemaeker P. N.; Morel F.; Malledant Y.; Guillouzo A. Catecholamines induce an inflammatory response in human hepatocytes. **Crit Care Med.** 2008 Mar; 36 (3):848-54. DOI: 10.1097/CCM.0B013E31816532BE

Anziliero D.; Bassi E.; Pain K. M.; Valle S. F.; Kreutz L. C. Determinação dos níveis séricos de Proteína C-Reativa (CRP) em cães com alterações dos parâmetros hematológicos. **Ciência Animal Brasileira**, 2013, 14(2), 265–272. DOI: <https://doi.org/10.5216/cab.v14i2.9054>

Bochud P. Y.; Bonten M.; Marchetti O.; Calandra T. Antimicrobial therapy for patients with severe sepsis and septic shock: an evidence-based review. **Crit Care Med.** 2004 Nov;32(11 Suppl):S495-512. DOI: 10.1097/01.ccm.0000143118.41100.14.

Bochud P. Y.; Glauser M. P.; Calandra T. International Sepsis Forum. Antibiotics in sepsis. **Intensive Care Med.** 2001;27 Suppl 1:S33-48. DOI: 10.1007/pl00003796.

Bone R. C.; Balk R. A.; Cerra F. B.; Dellinger R. P.; Fein A. M.; Knaus W. A.; Schein R. M.; Sibbald W. J. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. **American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine.** 2012. DOI:<https://doi.org/10.1378/chest.101.6.1644>

Calabró P.; Willerson J. T.; Yeh E. T. Inflammatory cytokines stimulated C-reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells. **Circulation** (2003) DOI: 10.1161/01.CIR.0000096055.62724.C5.

Castro B.; Rabelo R. C. SEPSIS-3: Uma análise aplicada à medicina veterinária. **Journal Latinoamericano de Medicina Veterinaria de Emergencia y Cuidados Intensivos**, v. 9, n. 3, 2017.

Cerón J. J.; Eckersall P. D.; Martínez-Subiela S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Vet Clin Pathol**. 2005 Jun;34(2):85-99. Doi: 10.1111/j.1939-165x.2005.tb00019.x

Chamberlain D. J.; Willis E.; Clark R.; Brideson G. Identification of the severe sepsis patient at triage: a prospective analysis of the Australasian Triage Scale. **Emerg Med J**. 2015 Sep;32(9):690-7. DOI: 10.1136/emmermed-2014-203937.

Cinel I.; Kasapoglu U. S.; Gul F.; Dellinger R. P. The initial resuscitation of septic shock, **Journal of Critical Care**, Volume 57, 2020, Pages 108-117, ISSN 0883-9441. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2020.02.004>.

Cohen J.; Vincent J. L.; Adhikari N. K.; Machado F. R.; Angus D. C.; Calandra T.; Jaton K.; Giulieri S.; Delaloye J.; Opal S.; Tracey K.; Van der Poll T.; Pelfrene E. Sepsis: a roadmap for future research. **Lancet Infect Dis**. 2015 May;15(5):581-614. DOI: 10.1016/S1473-3099(15)70112-X.

Corfield A. R.; Lees F.; Zealley I.; Houston G.; Dickie S.; Ward K.; McGuffie C. Utility of a single early warning score in patients with sepsis in the emergency department. **Emerg Med J**. Scottish Trauma Audit Group Sepsis Steering Group, 2014 Jun;31(6):482-7. DOI: 10.1136/emmermed-2012-202186.

Costello M.; F. Shock. In: DROBATZ, K. J. & COSTELLO, M. F. **Feline Emergency and Critical Care Medicine**. Wiley-Blackwell, Iowa, USA, p. 23-29, 2010.

Danesh J.; Wheeler J. G.; Hirschfield G. M.; Eda S.; Eiriksdottir G.; Rumley A.; Lowe G. D.; Pepys M. B.; Gudnason V. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. **N Engl J Med**. 2004 Apr 1;350(14):1387-97. DOI: 10.1056/NEJMoa032804.

Devaraj S.; Clos T. W. D.; Jialal I. Binding and Internalization of C-Reactive Protein by Fcγ Receptors on Human Aortic Endothelial Cells Mediates Biological Effects. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**. 2005, Vol. 25, n7. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000168573.10844.ae>

Eckersall P. D.; Bell R. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. **The Veterinary Journal**, v.185, p.23–27, 2010. DOI: 10.1016/j.tvjl.2010.04.009.

Eklund CM. Proinflammatory cytokines in CRP baseline regulation. **Adv Clin Chem** 2009;48:111-136. DOI: 10.1016/s0065-2423(09)48005-3.

Evans L.; Rhodes A.; Alhazzani W; Antonelli M; Coopersmith C M.; French C.; Machado F. R.; McIntyre L.; Ostermann M.; Prescott H. C.; Schorr C.; Simpson S.; Wiersinga J. W.; Alshamsi F.; Angus D. C.; Arabi Y; Azevedo L.; Beale R.; Beilman G.; Belley-Cote E.; Burry L.; Cecconi M.; Centofanti J.; Yataco A. C.; De Waele J.; Dellinger R. P.; Doi K.; Du B.; Estenssoro E.; Ferrer R.; Gomersall C.; Hodgson C.; Møller M. H.; Iwashyna T.; Jacob S.; Kleinpell R.; Klompas M.; Koh Y.; Kumar A.; Kwizera A.; Lobo S.; Masur H.; McGloughlin S.; Mehta S.; Mehta Y.; Mer M.; Nunnally M.; Oczkowski S.; Osborn T.; Papathanassoglou E.; Perner A.; Puskarich M.; Roberts J.; Schweickert W.; Seckel M.; Sevransky J.; Sprung C. L.; Welte T.; Zimmerman J; Levy M. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock 2021. **Critical Care Medicine**. 49(11):p 1974-1982, November 2021. DOI: 10.1097/CCM.0000000000005357

Fang X.; Wang Z.; Yang Z.; Cai H; Yao Z.; Li K. Fang Q. Clinical evaluation of Sepsis-1 and Sepsis-3 in the ICU. **Chest Online, In Press**, p. 1-8, 2017. DOI: 10.1016/j.chest.2017.06.037

Fernando S. M.; Tran A.; Taljaard M.; Cheng W.; Perry J. J. Prognostic Accuracy of the Quick Sequential Organ Failure Assessment for Mortality in Patients With Suspected Infection: A Systematic Review and Meta-analysis. **Ann Intern Med** 2018; Aug 21;169(4):264-265. DOI: 10.7326/L18-0291.

Garrido M.; Dezerega A.; Bordagaray M. J.; Reyes, M.; Vernal R.; Melgar-rodríguez S.; Ciuchi P.; Paredes R.; García-sesnich J.; Ahumada-montalva P.; Hernández M. C-Reactive Protein Expression Is Up-regulated in Apical Lesions of Endodontic Origin in Association with Interleukin-6. **Journal of Endodontics**, 41(4), 464–469, 2015. DOI:10.1016/j.joen.2014.12.021

Gebhardt C.; Hirschberger J.; Rau S.; Arndt G.; Krainer, K.; Schweigert F. J.; Brunnberg, L.; Kaspers B.; KOHN, B. Use of C-reactive protein to predict outcome in dogs with systemic inflammatory response syndrome or sepsis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, 19(5):450-8, Oct, 2009. DOI: 10.1111/j.1476-4431.2009.00462.x.

Gill A.; Ackermann K.; Hughes C.; Lam V.; Li L. Does lactate enhance the prognostic accuracy of the quick Sequential Organ Failure Assessment for adult patients with sepsis? A systematic review. **BMJ Open**. 2022 Oct 21;12(10):e060455. DOI: 10.1136/bmjopen-2021-060455.

Godínez-Vidal AR, Alcántara-Gordillo R, Aguirre-Rojano VI, López-Romero SC, González-Calatayud M, González-Pérez LG, Pulido-Cejudo A, Gracida-Mancilla NI. Evaluation of C-reactive protein, procalcitonin and the PCR/PCT index as indicators of mortality in abdominal sepsis. **Cir Cir**. 2020;88(2):150-153. English. doi: 10.24875/CIRU.19000993

Gotts J. E.; Matthay M. A. Sepsis: pathophysiology and clinical management. **B. M. J.** 2016, 353:i1585. DOI: 10.1136/bmj.i1585

Hagman R.; Reezigt B. J.; Ledin H. B.; Karlstam E. Blood lactate levels in 31 female dogs with pyometra. **Acta Veterinaria Scandinavica.** v.51, n.2; 2009. DOI: 10.1186/1751-0147-51-2.

Hayes G.; Mathews K.; Doig G.; Kruth S.; Boston S.; Poljak Z.; Nykamp S.; Dewey C.. The acute patient physiologic and laboratory evaluation (APPLE) score: a severity of illness stratification system for hospitalized dogs. **J Vet Intern Med.** 2010 Sep-Oct;24(5):1034-47. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2010.0552.x.

Ho K. M.; Lipman J. An update on C-reactive protein for intensivists. **Anaesth Intensive Care,** v. 37, n. 2, p. 234-41, Mar 2009. ISSN 0310-057X. DOI: 10.1177/0310057X0903700217.

Hotchkiss R. S.; Monneret G.; Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. **Nat Rev Immunol.** 2013 Dec;13(12):862-74. DOI: 10.1038/nri3552.

Jasensky A.K., Bondzio A., Murugaiyan J., Siebert U., Roesler U., Kohn B., Einspanier R. Characterization of the native C-reactive protein (cCRP) and the corresponding liver mRNA in dogs. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 2014;452:462–467. DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.08.090

Kashyap R., Sherani K. M.; Dutt T.; Gnanapandithan K.; Sagar M.; Vallabhajosyula S.; Vakil A. P.; Surani S. Current Utility of Sequential Organ Failure Assessment Score: A Literature Review and Future Directions. **Open Respir Med J.** 2021 Apr 13;15:1-6. DOI: 10.2174/1874306402115010001.

Kaukonen K. M.; Bailey M.; Pilcher D.; Cooper D. J.; Bellomo R. Systemic inflammatory response syndrome criteria in defining severe sepsis. **N Engl J Med.** 2015 Apr 23;372(17):1629-38. DOI: 10.1056/NEJMoa1415236.

Kawai T.; Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. **Nat immunol.** 2010. DOI: <https://doi.org/10.1038/ni.1863>

Le Gall J. R.; Klar J.; Lemeshow S.; Saulnier F.; Alberti C.; Artigas A.; Teres D. The Logistic Organ Dysfunction system. A new way to assess organ dysfunction in the intensive care unit. ICU Scoring Group. **JAMA.** 1996 Sep 11;276(10):802-10. DOI: 10.1001/jama.276.10.802.

Levy M. M.; Fink, M. P.; Marshall J. C.; Abraham E.; Angus D.; Cook D.; Cohen J.; Opal S. M.; Vincent J. L.; Ramsay G. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS

International Sepsis Definitions Conference. **Intensive Care Medicine**. 2003; 29(4):530-538. DOI: 10.1097/01.CCM.0000050454.01978.3B

Li Y.; Yan C.; Gan Z.; Xi X.; Tan Z.; Li J.; Li G. Prognostic values of SOFA score, qSOFA score, and LODS score for patients with sepsis. **Ann Palliat Med**. 2020 May;9(3):1037-1044. DOI: 10.21037/apm-20-984.

Machado F. R; Assunção M. S. C.; Cavalcanti A. B.; Japiassú A. M.; Azevedo L. C. P.; Oliveira M. C. Chegando a um consenso: vantagens e desvantagens do Sepsis-3 considerando países de recursos limitados. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**. 2016; 28(4): 361-365; DOI: <https://doi.org/10.5935/0103-507X.20160068>

Malin K.; Witkowska-Piłaszewicz O. C-Reactive Protein as a Diagnostic Marker in Dogs: A Review. **Animals (Basel)**. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani12202888>

Martín-Rodríguez F.; López-Izquierdo R.; Castro Villamor M.; DelPozoVegas C.; SánchezSoberón I.; Delgado-Benito J.; Carbajosa Rodríguez V.; Leonardo R; Martín-Conty J. Head-to-head comparison of pre-hospital qSOFA and lactate-qSOFA for predicting sepsis in patients with and without suspected infection. A multicenter prospective cohort study. **Arch Med Sci**. 2020 Feb 12;20(5):1547-1555. DOI: 10.5114/aoms.2020.92901.

MCclure V.; Schoor M.; Thompson P. N.; Hansen M. K.; Goddard A. Evaluation of the use of serum C-reactive protein concentration to predict outcome in puppies infected with canine parvovirus. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. 2013. DOI: 10.2460/javma.243.3.361

Murata H.; Shimada N.; Yoshioka M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **The Veterinary Journal**, v. 168, p. 28-40, 2004. DOI: 10.1016/S1090-0233(03)00119-9.

Pasceri V.; Willerson J. T.; Yeh E. T. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. **Circulation**. 2000 Oct 31;102(18):2165-8. DOI: 10.1161/01.cir.102.18.2165.

Pashmakova M. B.; Bishop M. A.; Steiner J. M.; Suchodolski J. S.; Barr J. W. Evaluation of serum thyroid hormones in dogs with systemic inflammatory response syndrome or sepsis. **J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)**. 2014 May-Jun;24(3):264-71. DOI: 10.1111/vec.12172.

Paul C.; Hansson L, Seierstad S. L.; Kriz K. 2011. Canine C-Reactive Protein – **A Clinical Guide**. 2011. 1th edition. Lund, Sweden: Life Assays.

Pepys M. B; Hirschfield G. M. C-reactive protein: a critical update. **J Clin Invest**. 2003 Jun;111(12):1805-12. DOI: 10.1172/JCI18921.

Póvoa P.; Almeida E.; Moreira P.; Fernandes A.; Mealha R.; Aragão A.; Sabino H. C-reactive protein as an indicator of sepsis. **Intensive Care Med.** 1998;24(10):1052-6. DOI: 10.1007/s001340050715.

Ribeiro C. I. L. Avaliação seriada da proteína C reativa e do lactato em canídeos, doentes críticos, durante a sua hospitalização. **Dissertação de Mestrado.** Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Faculdade de Medicina Veterinária (FMV), Lisboa, Portugal, 2021.

Ripanti D.; Dino G.; Piovano G.; Farca A. M. Application of the Sequential Organ Failure Assessment Score to predict outcome in critically ill dogs: Preliminary results. **Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde**, 2012. DOI: 10.1024/0036-7281/a000356.

Ross Y.; Ballou S. Reliability of C-reactive protein as an inflammatory marker in patients with immune-mediated inflammatory diseases and liver dysfunction. **Rheumatol Adv Pract.** 2023 May 2;7(2):rkad045. DOI: 10.1093/rap/rkad045.

Ruggerone B.; Scavone D.; Troia R.; Giunti M.; Dondi F.; Paltrinieri S. Comparison of Protein Carbonyl (PCO), Paraoxonase-1 (PON1) and C-Reactive Protein (CRP) as Diagnostic and Prognostic Markers of Septic Inflammation in Dogs. **Veterinary Sciences**, 29;8(6):93, Mai, 2021. DOI: 10.3390/vetsci8060093.

Schmidt E. M. S.; Eckersall P. D. Acute Phase Proteins as Markers of Infectious Diseases in small Animals / Proteini Akutne Faze Kao Markeri Infektivnih Bolesti Malih Životinja. **Acta Veterinaria**, Vol. 65, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1515/acve-2015-0013>

Seymour C. W.; Liu V. X.; Iwashyna T. J.; Brunkhorst F. M.; Rea T. D.; Scherag A.; Rubenfeld G.; Kahn J. M.; Shankar-Hari M.; Singer M.; Deutschman C. S.; Escobar G. J.; Angus D. C. Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). **JAMA.** 2016 Feb 23;315(8):762-74. DOI: 10.1001/jama.2016.0288.

Silverstein D. Tornadoes, sepsis, and goal-directed therapy in dogs. **J Vet Emerg Crit Care.** 2012, 22:395–7. Doi: 10.1111/j.1476-4431.2012.00784.x

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, 2012. Cap. 19, p. 444-450.

Sims C. R.; Nguyen T. C.; Mayeux P. R. Could Biomarkers Direct Therapy for the Septic Patient? **J Pharmacol Exp Ther.** 2016 May;357(2):228-39. DOI: 10.1124/jpet.115.230797

Singer M.; Deutschman C. S.; Seymour, C. W.; Hari M. S.; Anname D.; Bauer M.; Bellomo R.; Bernard G. R.; Chiche J. D.; Coopersmith C. M.; Hotchkiss R. S.; Levy M. M.; Marshall J. C.; Martin G. S.; Opal S. M.; Rubinfeld G. D.; Poll T. V. D.; Vincent J. L.; Angus D. C. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). **Journal of the American Medical Association**, v. 315, n. 8, p. 801–810. 2016.

Smyth M. A.; Brace-McDonnell S. J.; Perkins G. D. Identification of adults with sepsis in the prehospital environment: a systematic review. **BMJ Open**. 2016 Aug 5;6(8):e011218. DOI: 10.1136/bmjopen-2016-011218.

Sprung C. L.; Trahtenberg U. What definitions should we use for sepsis and septic shock? **Critical Care Medicine**. 2017 Sep;45(9):1564-1567. DOI: 10.1097/CCM.0000000000002544.

Subbe C. P.; Kruger M.; Rutherford P.; Gemmel L. Validation of a modified Early Warning Score in medical admissions. **QJM**. 2001 Oct;94(10):521-6. DOI: 10.1093/qjmed/94.10.521.

Tamayo E.; Fernández A.; Almansa R.; Carrasco E.; Heredia M.; Lajo C.; Goncalves L.; Gómez-Herreras J. I.; De Lejarazu R. O.; Bermejo-Martin J. F. Pro and anti-inflammatory responses are regulated simultaneously from the first moments of septic shock. **Eur Cytokine Netw**. 2011 Jun;22(2):82-7. DOI: 10.1684/ecn.2011.0281.

Tang B. M.; Huang S. J.; McLean A. S. Genome-wide transcription profiling of human sepsis: a systematic review. **Crit Care**. 2010;14(6):R237. DOI: 10.1186/cc9392.

Takala A.; Nupponen I.; Kylänpää-Bäck M. L.; Repo H. Markers of inflammation in sepsis. **Ann Med**. 2002;34(7-8):614-23. DOI: 10.1080/078538902321117841.

Tillett W. S.; Francis T. Serological reactions in pneumonia with a nonprotein somatic fraction of Pneumococcus. **J Exp Med**, 1930, 52:561–571. DOI: 10.1084/jem.52.4.561.

Usul E.; Korkut S.; Kayipmaz A. E.; Halici A.; Kavalci C. The role of the quick sequential organ failure assessment score (qSOFA) and modified early warning score (MEWS) in the pre-hospitalization prediction of sepsis prognosis. **Am J Emerg Med**. 2021 Mar;41:158-162. DOI: 10.1016/j.ajem.2020.09.049.

Ventetuolo C. E.; Levy M. M. Biomarkers: diagnosis and risk assessment in sepsis. **Clin Chest Med**. 2008 Dec;29(4):591-603, VII. DOI: 10.1016/j.ccm.2008.07.001.

Vincent J. L.; Donadello K.; Schmit X. Biomarkers in the critically ill patient: Creactive protein. **Crit Care Clin**, v. 27, n. 2, p. 241-51, Apr 2011 DOI: 10.1016/j.ccc.2010.12.010.

W.H.O. – World Health Organization. Improving the prevention, diagnosis and clinical management of sepsis. **Seventieth World Health Assembly** – Provisional Agenda item 12.2. p. 1-6, 2017.

W.H.O. – World Health Organization. Improving the prevention, diagnosis and clinical management of sepsis. In: Governing Body Matters: key issues arising out of the **Seventieth World Health Assembly** - 140th and the 141st sessions of the WHO Executive Board. Provisional Agenda item 10.1. p. 4-5, 2017.

CAPÍTULO 2

RESULTADOS

Uma análise post-hoc do poder estatístico alcançado foi realizada em todos os grupos com o tamanho de amostra coletado para a diferenciação da PCR entre animais saudáveis e em sepse, obtendo um poder de 98%, com uma significância objetiva de 95% e a possibilidade de diferenciar valores de $\pm 10\text{mg/L}$.

Os animais saudáveis apresentaram idade de $7,3 \pm 5,1$ anos, enquanto os animais em sepse apresentaram de $5,6 \pm 1,3$ anos. Conforme mostra o quadro 3, as principais causas que levaram ao desenvolvimento da sepse foram: piometra (11/31), gastroenterites (6/31), causas desconhecidas (4/31), feridas infectadas (3/31), cistite (3/31 10%), peritonite (1/31), doenças respiratórias (1/31), doença periodontal (1/31) e pancreatite (1/31).

Quadro 3. Resultados da porcentagem das etiologias, os agentes isolados e os métodos diagnósticos utilizados na identificação das infecções dos animais em sepse e choque séptico.

| Etiologia | % | Agente Etiológico | Método diagnóstico para confirmar a infecção |
|------------------------------|------------------|---|---|
| Piometra | (11/31) 35,5% | <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Streptococcus spp</i> | Cultivo Microbiológico Positivo |
| Gastroenterite | (6/31) 19,4% | <i>Parvovirus</i> <i>Salmonella</i> | Cultivo Microbiológico Positivo Reação da Cadeia Polimerase Positiva |
| Desconhecida | (4/31) 12,9% | - | Diagnóstico Clínico, laboratorial e exames de imagem |
| Feridas | (3/31) 9,7% | <i>Morganella morganii</i> , <i>Staphylococcus spp</i> <i>Pseudomonas</i> | Cultivo Microbiológico Positivo |
| Cistite | (3/31) 9,7% | <i>Escherichia coli</i> <i>Proteus mirabilis</i> | Cultivo Microbiológico Positivo |
| Peritonite | (1/31) 3,2% | - | Coloração de Gram de líquido cavitário |
| Doenças respiratórias | (1/31) 3,2% | <i>Pasteurella</i> | Cultivo Microbiológico Positivo |
| Doença Periodontal | (1/31) 3,2% | - | Diagnóstico Clínico e hematológico |
| Pancreatite | (1/31) 3,2% | - | Exames de imagem e hematologia |

Traço (-) significa que não houve agente etiológico isolado.

Por meio de isolamento microbiológico, Reação da Cadeia Polimerase e coloração de gram, foi possível confirmar infecção em 80,6% (25/31) dos pacientes, sendo 92% (23/25) por cultivo microbiológico, 4% (1/25) por Reação da Cadeia Polimerase e 4% (1/25) por coloração de Gram. Nos demais pacientes (6/31), a infecção foi determinada por meio da avaliação clínica após evidências de lesões e/ou feridas ulceradas, secreções purulentas (apesar de a cultura não apresentar crescimento *in-vitro*) e por meio de exames complementares, como a radiografia e ultrassonografia, indicando por vezes, pneumonia e pancreatite. Ainda que houvesse isolamento do agente etiológico, todos os pacientes apresentaram hemocultura negativa.

Dos doentes, 19,4% (6/31) foram identificados com choque séptico. A taxa de óbito geral (incluindo pacientes saudáveis e doentes) foi de 36%. Por outro lado, a taxa de mortalidade dos pacientes em sepse e choque séptico, alcançou uma porcentagem de 44% e 67% respectivamente.

A concentração sérica de PCR foi maior ($P < 0,001$) em pacientes em sepse ($172 \pm 76,0$ mg/L) do que nos animais saudáveis ($10,0 \pm 1,00$ mg/L) e também maior ($P = 0.4062$) nos animais classificados com choque séptico (198 ± 57.0 mg/L; Figura 1). Estatisticamente, um valor de PCR $> 12,5$ mg/L se mostrou útil ($P < 0.0001$) para a identificação da sepse nesses cães, podendo indicar que um paciente está em sepse com uma sensibilidade de 100% e especificidade de 91% (Figura 1).

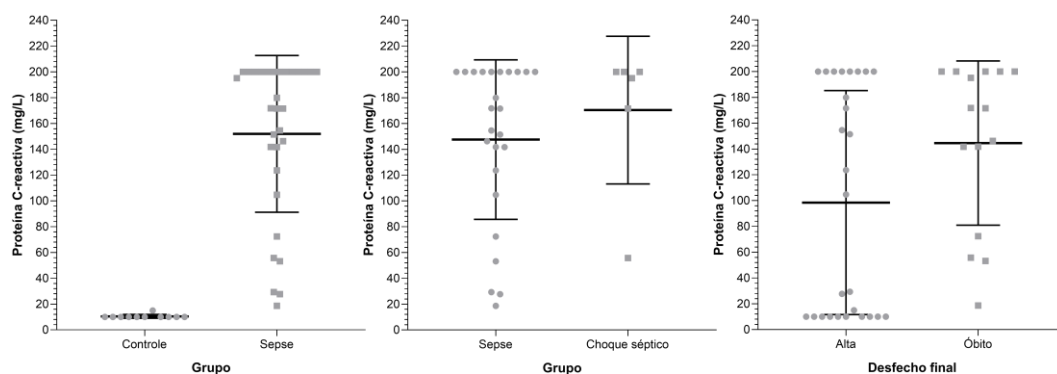


Figura 1. Representação gráfica da concentração sérica de PCR (mg/L) em 11 animais saudáveis que comportaram o grupo controle e em 31 animais em sepse (gráfico da esquerda), em 25 animais em sepse e 6 classificados como em choque séptico (gráfico do meio) e em 27 animais que receberam alta finalizando o experimento e em 15 animais que foram a óbito durante o experimento (gráfico da direita). Os pontos cinza representam cada uma das mensurações efetuadas, a linha horizontal mais grossa a mediana e, as barras, o intervalo interquartil.

Comparando a PCR entre pacientes que sobreviveram ao seu processo de enfermidade ($105 \pm 190 \text{ mg/L}$) e aqueles que foram a óbito ($172 \pm 128 \text{ mg/L}$), os valores se mostraram estatisticamente similares ($P=0,0979$), não sendo a PCR um biomarcador preditivo de mortalidade nos pacientes deste estudo ($P=0,1036$). Desse modo, o valor de corte para mortalidade resultante dessa análise, que corresponde a $\text{PCR} > 163 \text{ mg/L}$, se relaciona com a mortalidade com baixa sensibilidade (53%) e especificidade (63%). Comparando as taxas de mortalidade entre aqueles animais que superaram os 163 mg/L de PCR (44%) e os que não chegaram nesse valor (29%), estes resultados se consideram estatisticamente similares ($P = 0,3801$; Figura 2).

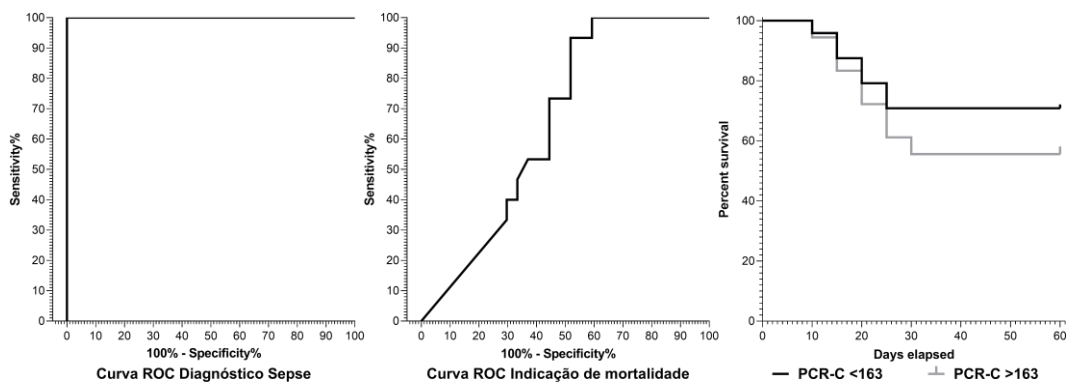


Figura 2. Curvas ROC (Característica de Operação do Receptor) que comparam a sensibilidade preditiva e a especificidade em % da concentração sérica de PCR (mg/L) para determinação de sepse (esquerda), a mortalidade (meio), e curva de sobrevivência de Kaplan Meyer, indicando a porcentagem de animais que sobreviveram com uma concentração de PCR <163 mg/L ou >163 mg/L.

Finalmente, ao correlacionar os valores séricos de PCR com os valores obtidos nas escalas utilizadas para a identificação e/ou classificação da gravidade da sepse nos pacientes estudados, observou-se correlação significativa e positiva para todas elas: SRIS ($P < 0,0001$ $r = 0,6005$), qSOFA ($P < 0,0001$ $r = 0,6938$), LqSOFA ($P < 0,0001$ $r = 0,7580$), SOFA ($P < 0,0001$ $r = 0,5882$), APPLEfast ($P < 0,0001$ $r = 0,6084$) e APPLEfull ($P < 0,0001$ $r = 0,7189$; Figura 3).

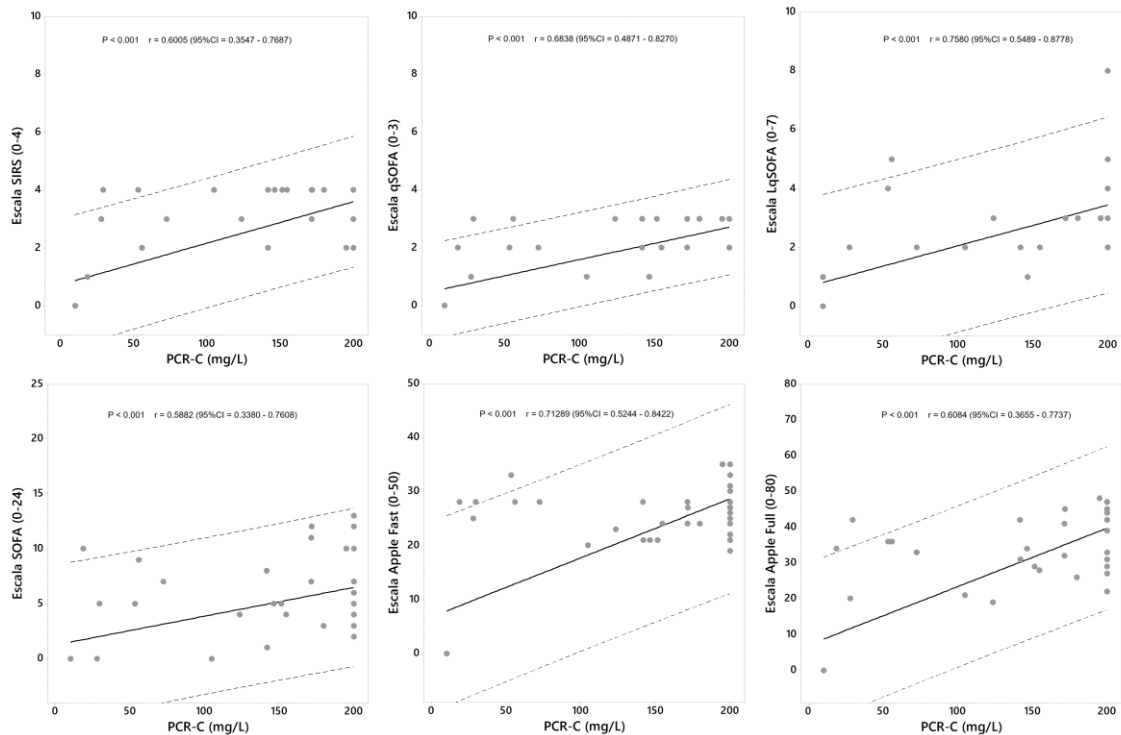


Figura 3. Gráficos de regressão linear, representando a relação existente entre os níveis séricos de PCR (mg/L) e as escalas: SIRS ($P < 0,0001$ $r = 0,6005$), qSOFA ($P < 0,0001$ $r = 0,6938$), LqSOFA ($P < 0,0001$ $r = 0,7580$), SOFA ($P < 0,0001$ $r = 0,5882$), APPLEfast ($P < 0,0001$ $r = 0,6084$) e APPLEfull ($P < 0,0001$ $r = 0,7189$), utilizadas para a identificação e/ou classificação da gravidade da sepse (correção de Spearman).

DISCUSSÃO

Nesse estudo, as principais etiologias observadas na ocorrência de sepse espontânea foi piometra (35,4%) e gastroenterites (19,3%) (Quadro 3). A piometra é amplamente vista na literatura como modelo de sepse espontânea (Jitpean *et al.* 2014; Gasser 2019) e também foi a principal doença identificada para o desenvolvimento da síndrome em cães em outro trabalho (Silveira *et al.* 2018). Da mesma forma, sabe-se que o *parvovírus*, agente responsável por grande parte das gastroenterites em cães, possui potencial para evoluir para um quadro séptico devido a possibilidade de translocação de bactérias gram-negativas anaeróbicas do lúmen intestinal para o sangue (Mylonakis, 2016; Krentz e Allen, 2017).

Houve discordância entre os resultados da hemocultura e dos isolamentos microbiológicos de outro tecido do mesmo animal, indicando que a cultura do sangue não foi útil para reconhecer a presença de agentes microbiológicos em condições sépticas, pois ainda que tenha ocorrido

isolamento microbiológico, todas as hemoculturas foram negativas. Sabe-se que a detecção de patógenos continua sendo o padrão ouro no estabelecimento da causa da infecção, mas as hemoculturas são apenas positivas em 30% a 40% dos casos de sepse. Em um terço dos casos de sepse clinicamente definidos, todas as culturas são estéreis (Bochud *et al.*, 2001; Bochud *et al.*, 2004). Além disso, a metodologia empregada nas hemoculturas é pouco sensível (Heilmann *et al.*, 2013).

Na literatura, as taxas de sobrevivência em cães com sepse se mostraram mais altas do que a desta pesquisa. No trabalho de Ortolani e Bellis (2021) e de Arias e outros (2017), estas foram de 71,4% e 66,67% respectivamente. Os resultados mostram que apenas 54% dos pacientes conseguiram se reestabelecer após a enfermidade, sendo ainda pior no choque séptico, onde somente 33% mantiveram-se vivos. A melhor sobrevida demonstrada por outros autores pode possivelmente ser atribuída ao menor tempo decorrido entre o instante em que o indivíduo entrou em sepse até a admissão no pronto atendimento, mas isso não pode ser afirmado, pois nem neste trabalho nem nos citados, o quadro séptico foi induzido. Ainda assim, presume-se que esse tempo tenha sido superior em nossa pesquisa em razão da condição socioeconômica dos tutores, pois estes esperam mais para dirigir-se ao Hospital Veterinário exatamente devido a sua limitação financeira.

Valores $>12,5\text{mg/L}$ de PCR demonstraram-se satisfatórios para identificar sepse nos cães deste estudo com alta sensibilidade e especificidade. Ainda assim, isso evidencia que a PCR não deve ser usada isoladamente para o diagnóstico de sepse, como já visto em outro trabalho (Malin e Pilaszewicz, 2022), pois é conhecido o seu aumento de 100 a 1000 vezes aos valores basais quando há estimulação por meio de citocinas (Eckersall e Bell, 2010). Além disso, há evidências de elevação de PCR em situações extra sépticas, como pós-cirúrgicas (M_d 49,9mg/L), pós-traumáticas (M_d 81,8mg/L) e pós envenenamentos (M_d 73,6mg/L) (Christensen *et al.* 2014). Em vista disso, os autores deste trabalho reforçam a necessidade desse resultado ser interpretado com cautela.

As escalas SRIS, qSOFA e LqSOFA foram introduzidas para auxiliar na triagem dos cães, unindo a ferramenta de seleção tradicional proposta pelo Sepsis-1 (Bone *et al.* 1992), a sugestão do Sepsis-3 para uma rápida identificação de risco de óbito e disfunção orgânica (Singer *et al.*, 2016) e a adição do lactato para ampliar a sensibilidade do qSOFA (Martín-Rodríguez *et al.*, 2020). Dessas três, o LqSOFA apresentou maior força de correlação com a PCR. O lactato foi considerado um biomarcador prognóstico independente na sepse humana, uma vez que se concluiu que quanto menor o seu valor, melhor a taxa de sobrevivência, sendo, inclusive, superior ao qSOFA para predizer mortalidade (Liu *et al.* 2019).

No estudo de Ortolani e Bellis (2021), embora a pontuação do LqSOFA não tenha se apresentado um preditor útil de mortalidade em cães gravemente doentes, o qSOFA provou ser um teste de triagem ruim para a previsão de sobrevivência. Diante desse fato e somado a evidência da forte correlação positiva entre a PCR e o LqSOFA no presente trabalho, pode-se sugerir que a escala adicionada de lactato provavelmente seja a melhor escolha para se empregar no pronto atendimento quando comparado ao qSOFA, ainda que o lactato não tenha atingido os limites estatísticos para ser incluído no diagnóstico de sepse conforme descrito no Sepsis-3 (Singer *et al.*, 2016).

Constatou-se que quanto mais alta a PCR, maior a pontuação do SOFA e, conseqüentemente, mais notória a disfunção orgânica do paciente. Determinados parâmetros utilizados nessa escala podem sofrer interferências além da condição séptica, sendo uma observação que deve ser considerada, uma vez que possui potencial para subestimar e/ou superestimar a pontuação do SOFA, como azotemia pré e pós-renal, que eleva os valores de creatinina (Thrall *et al.*, 2012), pseudotrombocitopenia, que ocasiona uma falsa diminuição de plaquetas (Takahira, 2003), e incidência de luz solar e/ou artificial sobre a amostra sanguínea, podendo depurar cerca de 6,48% da bilirrubina a cada hora (Deo *et al.*, 2016). Por isso, o cálculo da avaliação renal e da coagulação pode gerar um SOFA positivo sem necessariamente possuir comprometimento funcional em órgãos.

Utilizou-se as escalas *APPLEFast* e *APPLEFull* para avaliar o risco de mortalidade, apresentando correlação positiva forte com a PCR. Todavia, ainda que tenha sido notado que pacientes em choque séptico, assim como os que evoluíram para óbito, apresentaram PCR superior aos demais, altos valores de PCR não estiveram relacionados com o óbito, apresentando-se estatisticamente similares entre os indivíduos que sobreviveram e os que morreram. Esse resultado foi igualmente constatado por Gommeren e colaboradores (2018), onde a proteína também não se mostrou confiável para prever a sobrevivência dos cães em SRIS. Por outro lado, no estudo de Koozi e outros (2020), com humanos em sepse, não só puderam afirmar que ela esteve associada a mortalidade, como certificaram que se trata de um marcador precoce para tal.

Supostamente, a divergência no resultado entre o estudo em humanos e o nosso, conforme acima citado, pode ser atribuída à sensibilidade do teste utilizado, uma vez que valores de PCR acima de 200mg/L não puderam ser detectados. Aparentemente, a técnica empregada na medicina possui maior acurácia, tendo em vista que os níveis de PCR variaram entre 0,6 a 695mg/L, mas a metodologia não foi descrita (Koozi *et al.* 2020). A dosagem de PCR não é uma realidade na rotina hospitalar veterinária, o que impede que esses resultados sejam consultados de prontuários médicos, como visto em trabalhos desenvolvidos na medicina (Godinez-Vidal *et al.* 2020; Stringer *et al.* 2021; Tonduangu *et al.* 2021), o que obriga a aquisição de máquinas por meio de recursos financeiros disponibilizados para a pesquisa, que são, muitas vezes, escassos, e resulta na obtenção de equipamentos restritos.

Mesmo diante do fato acima, a PCR pode ser um biomarcador útil para identificar a síndrome no pronto atendimento quando associada a outros parâmetros, como as escalas de pontuação aqui aplicadas. Adicionalmente, a dosagem de PCR por meio da técnica de FIA, utilizada na metodologia deste estudo, possui vantagens por possuir baixo custo, facilidade no manuseio e rápida mensuração, podendo ser facilmente empregada na rotina hospitalar e auxiliar na conduta clínica, apesar de suas limitações.

CONCLUSÕES

A PCR demonstrou alta sensibilidade e especificidade para diagnóstico de sepse em cães suspeitos que apresentem concentrações séricas maiores que 12,5mg/L. Quando associado às escalas SRIS, qSOFA, LqSOFA, SOFA, *APPLEFull* e *APPLEFast*, as concentrações de PCR podem ser utilizadas para prever mortalidade por meio da Síndrome de Múltipla Disfunção Orgânica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arezes J.; Jung G.; Gabayan V.; Valore E.; Ruchala P.; Gulig P. A.; Ganz T.; Nemeth E.; Bulut Y. Hepcidin-induced hypoferremia is a critical host defense mechanism against the siderophilic bacterium *Vibrio vulnificus*. **Cell Host Microbe**. 2015 Jan 14;17(1):47-57. DOI: 10.1016/j.chom.2014.12.001.

Arias M. V. B.; Padilha F. N.; Perugini M. R. E. Deep tissue culture and hemoculture in dogs with wounds and sepsis. Small Animal Diseases. **Pesq. Vet. Bras.** 37 (12), Dec 2017. DOI:<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017001200020>

Armitage A. E.; Eddowes L. A.; Gileadi U.; Cole S.; Spottiswoode N.; Selvakumar T. A.; Ho L. P.; Townsend A. R.; Drakesmith H. Hepcidin regulation by innate immune and infectious stimuli. **Blood**. 2011 Oct 13;118(15):4129-39. DOI: 10.1182/blood-2011-04-351957.

Bochud P. Y.; Glauser M. P.; Calandra T. International Sepsis Forum. Antibiotics in sepsis. **Intensive Care Med**. 2001;27 Suppl 1:S33-48. DOI: 10.1007/pl00003796.

Bochud P. Y.; Bonten M.; Marchetti O.; Calandra T. Antimicrobial therapy for patients with severe sepsis and septic shock: an evidence-based review. **Crit Care Med**. 2004 Nov;32(11 Suppl):S495-512. DOI: 10.1097/01.ccm.0000143118.41100.14.

Bone R. C.; Balk R. A.; Cerra F. B.; Dellinger R. P.; Fein A. M.; Knaus W. A.; Schein R. M.; Sibbald W. J. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. **American College of Chest**

Physicians/Society of Critical Care Medicine. 2012
DOI:<https://doi.org/10.1378/chest.101.6.1644>

Deo S.; Ansari A. H.; Dev S.; Santosh Mr; Deo K. The effect of light on the specimens of serum bilirubin in clinical laboratory. **International Journal of Current Research in Medical Sciences.** 2016, 25-30. Doi:<http://s-o-i.org/1.15/ijcrms-2016-2-8-4>

Deysine M.; Stein S. Albumin shifts across the extracellular space secondary to experimental infections. **Surg Gynecol Obstet.** 1980 Nov;151(5):617-20.

Eckersall P.D.; Bell R. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. **The Veterinary Journal,** v.185, p.23–27, 2010. DOI: 10.1016/B978-0-12-394596-9.00005-6

Furukawa M.; Kinoshita K.; Yamaguchi J.; Hori S.; Sakurai A. Sepsis patients with complication of hypoglycemia and hypoalbuminemia are an early and easy identification of high mortality risk. **Intern Emerg Med.** 2019 Jun;14(4):539-548. DOI: 10.1007/s11739-019-02034-2.

Gasser B. Avaliação da perfusão renal de cadelas em sepse por piometra por meio da ultrassonografia com contraste por microbolhas e doppler. **Dissertação de Mestrado.** Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Unesp, Jaboticabal, São Paulo, 2019.

Gatta A.; Verardo A.; Bolognesi M. Hypoalbuminemia. **Intern Emerg Med.** 2012 Oct;7 Suppl 3:S193-9. DOI: 10.1007/s11739-012-0802-0.

Goldwasser P.; Feldman J. Association of serum albumin and mortality risk. **J Clin Epidemiol.** 1997 Jun;50(6):693-703. DOI: 10.1016/s0895-4356(97)00015-2.

Heilmann R. M.; Xenoulis P. G.; Barr J. W.; Dowd S. E.; Lawhon S. D.; Suchodolski J. S.; Steiner J. M. Comparison of PCR and conventional blood culture to analyze blood from dogs with suspected sepsis. **Vet J.** 2013 Dec;198(3):714-6. DOI: 10.1016/j.tvjl.2013.10.001.

Hinshaw L. B. Sepsis/septic shock: participation of the microcirculation: an abbreviated review. **Crit Care Med.** 1996 Jun;24(6):1072-8. DOI: 10.1097/00003246-199606000-00031.

Jitpean S.; Holst B. S.; Höglund O. V.; Pettersson A.; Olsson U.; Strage E.; Södersten F.; Hagman R. Serum insulin-like growth factor-I, iron, C-reactive protein, and serum amyloid A for prediction of outcome in dogs with pyometra. **Theriogenology.** 2014, 82:43– 8. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2014.02.014

Kaneko J.J.; Harvey J.W.; Bruss M.L. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6th Edition, **Academic Press**, San Diego, 493, 889-895, 2008.

Krentz T.; Allen S. Bacterial translocation in critical illness. **J Small Anim Pract.** 2017, 1–8. DOI:10.1111/jsap.12626.

Liu Z.; Meng Z.; Li Y.; Zhao J.; Wu S.; Gou S.; Wu H. Prognostic accuracy of the serum lactate level, the SOFA score and the qSOFA score for mortality among adults with Sepsis. **Scand J Trauma Resusc Emerg Med.** 2019 Apr 30;27(1):51. DOI: 10.1186/s13049-019-0609-3.

Martín-Rodríguez F.; López-Izquierdo R.; Castro Villamor M.; DelPozoVegas C.; SánchezSoberón I.; Delgado-Benito J.; Carbajosa Rodríguez V.; Leonardo R; Martín-Conty J. Head-to-head comparison of pre-hospital qSOFA and lactate-qSOFA for predicting sepsis in patients with and without suspected infection. A multicenter prospective cohort study. **Arch Med Sci.** 2020 Feb 12;20(5):1547-1555. DOI: 10.5114/aoms.2020.92901.

Moraes L. F.; Takahira R. K. Aplasia Medular em Cães. **Revista de Ciências Agroveterinárias.** Lages, v.9, n.1, p. 99-108, 2010. ISSN 1676-9732

Mylonakis M. E.; Kalli I.; Rallis T. S. Canine parvoviral enteritis: an update on the clinical diagnosis, treatment, and prevention. **Vet Med (Auckl).** 2016. DOI: 10.2147/VMRR.S80971

Ortolani J. M.; Bellis T. J. Evaluation of the quick sequential organ failure assessment score plus lactate in critically ill dogs. **J Small Anim Pract.** 2021 Oct;62(10):874-880. DOI: 10.1111/jsap.13381.

Ralphs S. C.; Jessen C. R.; Lipowitz A. J. Risk factors for leakage following intestinal anastomosis in dogs and cats: 115 cases (1991-2000). **J Am Vet Med Assoc.** 2003 Jul 1;223(1):73-7. DOI: 10.2460/javma.2003.223.73.

Rodriguez R.; Jung C. L.; Gabayan V.; Deng J. C.; Ganz T.; Nemeth E.; Bulut Y. Hepcidin induction by pathogens and pathogen-derived molecules is strongly dependent on interleukin-6. **Infect Immun**. 2014 Feb;82(2):745-52. doi: 10.1128/IAI.00983-13.

Silveira M. M.; Cândido S. L.; Santos K. R.; Maia M. O.; Souza R. L.; Sousa V. R. F.; Almeida A. B. P. F.; Dutra V.; Nakazato L. Polymerase Chain Reaction and blood culture for diagnosis of canine sépsis. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.48:06, e20170871, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20170871>

Singer M.; Deutschman C. S.; Seymour, C. W.; Hari M. S.; Annane D.; Bauer M.; Bellomo R.; Bernard G. R.; Chiche J. D.; Coopersmith C. M.; Hotchkiss R. S.; Levy M. M.; Marshall J. C.; Martin G. S.; Opal S. M.; Rubinfeld G. D.; Poll T. V. D.; Vincent J. L.; Angus D. C. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). **Journal of the American Medical Association**, v. 315, n. 8, p. 801–810. 2016.

Stefanova D.; Raychev A.; Arezes J.; Ruchala P.; Gabayan V.; Skurnik M.; Dillon B. J.; Horwitz M. A.; Ganz T.; Bulut Y.; Nemeth E. Endogenous hepcidin and its agonist mediate resistance to selected infections by clearing non-transferrin-bound iron. **Blood**. 2017 Jul 20;130(3):245-257. DOI: 10.1182/blood-2017-03-772715.

Stockham S. L.; Scott M. A. Fundamentos da Patologia Clínica Veterinária. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2011.

Tamayo E.; Fernández A.; Almansa R.; Carrasco E.; Heredia M.; Lajo C.; Goncalves L.; Gómez-Herreras J. I.; De Lejarazu R. O.; Bermejo-Martin J. F. Pro and anti-inflammatory responses are regulated simultaneously from the first moments of septic shock. **Eur Cytokine Netw**. 2011 Jun;22(2):82-7. DOI: 10.1684/ecn.2011.0281.

Tang B. M.; Huang S. J.; McLean A. S. Genome-wide transcription profiling of human sepsis: a systematic review. **Crit Care**. 2010;14(6):R237. DOI: 10.1186/cc9392.

Thrall M. A.; Weiser G.; Allison R. W.; Campbell T. W. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. 2ªEd. **Editora Roca Ltda**, 2012, p.691

Torrente C.; Manzanilla E.G.; Bosch L.; Fresno L.; Rivera Del Alamo M.; Andaluz A.; Saco Y.; Ruiz de Gopegui R. Plasma iron, C-reactive protein, albumin, and plasma fibrinogen concentrations in dogs with systemic inflammatory response syndrome. **J. Vet. Emerg. Crit. Care**. 2015;25:611–619. DOI: 10.1111/vec.12340.

Tvedten H. 2010. Laboratory and clinical diagnosis of anemia. In: Weiss, D.J., Wardrop, K.J. (Eds.), Schalm's veterinary hematology, **Wiley-Blackwell**, pp. 152-161.

Viana R. A. P. P.; Machado F. R.; Souza J. L. A. Sepsis, um problema de saúde pública: a atuação e colaboração da enfermagem na rápida identificação e tratamento da doença. São Paulo: **Coren-SP**, v.3, n. 3, p. 10-66, 2020.

Yamaguchi J.; Kinoshita K.; Ihara S.; Furukawa M.; Sakurai A. The Clinical Significance of Low Serum Arachidonic Acid in Sepsis Patients with Hypoalbuminemia. **Intern Med.** 2018 Jul 1;57(13):1833-1840. DOI: 10.2169/internalmedicine.9124-17

Apêndices

Apêndice I - Termo de consentimento livre e esclarecido



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) ESTUDOS CLÍNICOS (PROTOCOLO INDIVIDUAL)

Eu, _____, declaro autorizar a inclusão do meu animal _____, espécie _____, no Projeto de Pesquisa intitulado "Proteína c reativa como biomarcador a beira leito de sepse espontânea em cães", que será desenvolvido pela Pesquisadora Laura Soares Magalhães, sob orientação do Prof. Dr. Paulo Fernandes Marcusso, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu – FMVZ – UNESP.

O objetivo do estudo é mensurar a Proteína C reativa em animais em sepse e choque séptico. Para isso, serão selecionados cães da rotina do Hospital Veterinário da FMVZ com infecção suspeita ou confirmada. Os animais selecionados passarão por uma avaliação física para verificar nível de consciência, frequência respiratória, frequência cardíaca, temperatura retal e pressão arterial sistólica. Se os parâmetros citados estiverem alterados, após o exame físico será colhido sangue do paciente para realizar exames laboratoriais como hemograma, bioquímica sérica, hemogasometria e a mensuração da proteína C reativa.

O projeto apresenta benefícios para a comunidade científica, uma vez que contribuirá com mais pesquisas acerca da sepse, um quadro clínico grave, de evolução rápida e pouco esclarecida, onde a maioria dos desfechos resultam em óbito. Assim sendo, nota-se uma urgência em buscar novos critérios ou marcadores que viabilizem um diagnóstico preciso acerca da sepse na medicina veterinária.

Recebi, por outro lado, os esclarecimentos necessários sobre os possíveis desconfortos e riscos decorrentes do estudo:

Quando o animal chegar ao Hospital Veterinário, ele passará por uma avaliação do veterinário para ver o nível de consciência dele, então ele vai verificar se o cão consegue abrir os olhos normalmente, se ele responde quando o tutor chama por ele, se ele consegue levantar a cabeça sozinho e se ele consegue caminhar. O veterinário também irá medir a pressão, ver se ele está com febre, se o coração está batendo direito e se ele está respirando bem. Se não tiver, precisa coletar um pouquinho de sangue dele para fazer alguns exames para descobrir que doença ele tem. A quantidade de sangue que será tirada é bem pequena, cerca de 3mL. O veterinário vai tirar o sangue com uma agulha e seringa. Normalmente essa retirada de sangue não causa dor, mas ele pode sentir um pequeno desconforto porque quando a agulha entrar na veia, ele pode sentir como se tivesse recebendo uma picada de formiga, mas a colheita de sangue é rápida e o desconforto é momentâneo. A coleta de sangue não oferece qualquer risco para a saúde do animal.

Declaro ter sido informado que, em caso de dúvidas, devo entrar em contato com Laura Soares Magalhães, telefone e/ou email (xx) x xxxx-xxxx / E-mail: ls.magalhaes@unesp.br

Na qualidade de responsável pelo animal acima mencionado, estou ciente e autorizo que os pesquisadores aqui citados realizem o estudo descrito, sendo que os resultados desse estudo poderão ser publicados em revistas científicas, sem no entanto, que minha identidade seja revelada.

Botucatu, ____ / ____ / ____

Pesquisador

Proprietário

Pesquisador: Laura Soares Magalhães

Orientador: Prof. Dr. Paulo Fernandes Marcusso

Apêndice II - Protocolo de Exame Clínico estabelecido pelo Hospital Veterinário (HV) da FMVZ, UNESP, Botucatu, São Paulo

| A comunicação com o tutor deve ocorrer de maneira informal | |
|--|---|
| Anamnese | |
| Queixa principal | Avaliar ingestão de água, alimentos, episódios de êmese e diarreia, aspecto, volume e frequência urinária |
| Aparência Geral | Avaliar Escore de Condição Corporal (ECC 1/9), EMM (0/3), nível de consciência (alerta, deprimido, apático, semicomatoso, comatoso). |
| Conduto auditivo, ocular, nasal e oral | Avaliar presença de secreção, prurido, lesão e hiperemia de mucosas. |
| Osteomuscular | Avaliar presença de claudicação, déficit motor, edema de membros, histórico de fraturas, traumas, atropelamento, fraqueza muscular. |
| Neurológico | Avaliar a existência de convulsão, head tilt, head pressing, andar em círculos, andar compulsivo, nistagmo, ataxia, alteração de comportamento, nível de consciência, postura e marcha. |
| Cardiovascular | Avaliar a presença de tosse, síncope, cianose de língua, cansaço fácil, perda progressiva de peso, ascite, edema de membros, viagem a praia/represa |
| Respiratório | Avaliar a presença de dispneia, secreção nasal, espirros, tosse e epistaxe. |
| Geniturinário | Verificar se o animal é castrado ou não, último cio, nulípara ou múltipara (distocia), uso de anticoncepcionais, avaliar a urina (cor, odor, aspecto, volume e frequência), disúria, hematúria, ingestão de água (normodipsia, oligodipsia ou polidipsia). |
| Gastrointestinal | Verificar se o animal está ingerindo alimento (normorexia, hiporexia ou anorexia), apetite caprichoso, êmese (coloração, número de episódios, tipo de conteúdo), diarreia, melena, hematoquezia, possibilidade de ingestão de corpo estranho, troca de dieta recente. |
| Pele e medicações | Presença de ectoparasitas (ixodidiose/pulicose), controle de ectoparasitas (princípio ativo utilizado e frequência), alopecia, prurido, lesões dermatológicas, nódulos, uso de medicações anteriores (recentes e contínuas) |
| Alimentação | Nome da ração utilizada (a granel ou pacote fechado), quantidade e número de porções. No caso de comida caseira, especificar o tipo de alimento e frequência. |
| Vacinação | Se a vacinação ocorreu de forma ética ou não, última dose, tipo de vacina. |
| Vermifugação | Data da última dose e nome do vermífugo |
| Contactantes | Número de contactantes, espécie e se são hígidos |
| Doenças Anteriores | Histórico completo de doenças e medicações utilizadas |
| Exame Físico | |
| <p>Antes do exame físico, todos os profissionais envolvidos com o paciente deverão calçar luvas de procedimento que serão devidamente descartadas após o uso.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Inspeção <ul style="list-style-type: none"> ○ Avaliação do estado de consciência, padrão respiratório, locomoção, escore de condição corporal, pelagem e lesões de pele, acuidade da visão e audição. • Avaliação de mucosas <ul style="list-style-type: none"> ○ Avaliação da integridade, coloração, brilho, umidade e tempo de reenchimento capilar. • Palpação <ul style="list-style-type: none"> ○ Avaliar sensibilidade ao toque, temperatura, simetria, elasticidade cutânea e aumento de linfonodos. • Ausculta Cardíaca <ul style="list-style-type: none"> ○ Avaliação do ritmo, frequência, bulhas e sopro. • Percussão <ul style="list-style-type: none"> ○ Avaliar a presença de sons timpânicos, maciço e claro. • Temperatura retal <ul style="list-style-type: none"> ○ Avaliar a temperatura retal do paciente (°C) para descartar ou confirmar hipertermia/hipotermia. | |

Apêndice III – Escola de coma Glasgow

| | | Escore | Nota |
|-------------------------------|----------------------------------|--------|------|
| Abertura Ocular | Espontânea | 4 | |
| | Estímulo verbal/Comando | 3 | |
| | Estímulo verbal/comando/ao grito | 3 | |
| | Estímulo doloroso | 2 | |
| | Sem abertura | 1 | |
| | | | |
| Melhor resposta à vocalização | Latido/Rosnado | 5 | |
| | Choramingo irritado | 4 | |
| | Choramingo a dor | 3 | |
| | Ganido a dor | 2 | |
| | Sem resposta) | 1 | |
| | | | |
| Melhor resposta motora | Movimento espontâneo e normal | 6 | |
| | Reação ao toque | 5 | |
| | Reação a dor | 4 | |
| | Flexão anormal - decorticação | 3 | |
| | Extensão anormal - descerebração | 2 | |
| | Nenhuma | 1 | |
| Total: | | | |
| Nível de gravidade: | | | |

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada Avaliação sérica da Proteína C Reativa em cães com sepse espontânea, registrada com o nº 000.183, sob a responsabilidade de LAURA SOARES MAGALHÃES e do(a) Prof(a). Dr(a) Paulo Fernandes Marcusso - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, em reunião de 20/08/2024.

| | |
|-------------------------|-----------------------------------|
| Finalidade | Pesquisa Científica |
| Vigência da Autorização | 29/07/2024 a 21/02/2025 |
| Espécie/linhagem/raça | Cão (Todas) |
| Número de animais | 38 |
| Sexo | Indefinido |
| Origem | Animais atendidos na rotina do HV |

A handwritten signature in blue ink that reads "Fábio Sossai Possebon".

Fábio Sossai Possebon
Presidente da CEUA
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Botucatu