

Resposta aos comentários dos revisores:

Notas do editor:

1)“- o resumo e o abstract deverão reflectir fielmente a estrutura do artigo, pelo que é necessário que incluam um parágrafo independente relativo ao capítulo "Discussão"”

Os autores concordam plenamente com o reparo sugerido pelo editor pelo que uma secção relativa à discussão foi incorporada no resumo do manuscrito revisto, de forma a espelhar fielmente a estrutura do artigo proposto.

2) “- o resumo e o abstract não deverão incluir abreviaturas;”

Mais uma vez, os autores agradecem a sugestão dada pelo editor, tendo sido retiradas as abreviaturas incluídas nas secções relativas a “resumo/abstract” do manuscrito proposto.

3) “- só são admissíveis como referência as obras consultadas na íntegra, pelo que deverão sempre ser referenciados pelo seu título original (ex: a refª 2 foi publicada integralmente em Espanhol, pelo que se depreende que os autores terão lido o artigo completo nesse idioma - é o título original nessa língua que deverá constar, e não a sua tradução em Inglês);”

Os autores confirmam que todas as referências incluídas no manuscrito foram lidas integralmente para que a sua posterior inclusão nas referências utilizadas fosse possível. Deste modo, foram revistas as referências incluídas e, no caso das publicadas em língua não-inglesa (neste caso em Espanhol), foram convertidos para os títulos originais na língua de publicação.

4) “- na listagem final de referências deverão ser identificados os seis primeiros autores das obras consultadas, e só depois fazer-se uso da expressão "et al"”

Os autores alteraram a descrição das referências de acordo com o reparo sugerido pelo editor de forma a incluir os seis primeiros autores e só depois a designação “*et al*”.

5) “na listagem final de referências, as revistas consultadas deverão ser identificadas na sua forma abreviada (ex: Acta Med Port e não Acta Médica Portuguesa);”

Tal como sugerido, os autores procederam à alteração da listagem final de referências de forma a identificar as publicações na sua forma abreviada.

6) “- a refª 15 está muuitíssimo incompleta - faltando pelo menos o local de publicação e o nome da casa publicadora;”

Os autores concordam com o reparo efetuado pelo editor assumindo que as informações relativas à referência número 15 são escassas (Manual RU. Cortisol, Elecsys and Cobas analysers V17 2010. In:2010.). Ressalva-se que a informação referida consta do manual de utilizador disponibilizado pela Roche (casa comercial) sobre os analisadores Elecsys e cobas com a referência 2010-07, V17 em Português. De forma a colmatar a dificuldade de acesso à informação, foi incluído um atalho para a mesma em forma de hiperligação que acompanha a referida referência.

Revisor A:

The authors thank all the positive feedback regarding the conceptual idea of the project included in the manuscript and its practical importance for clinical management of patients suspected of having hypercortisolism.

1) “In table-1 last [2.th](#) column. I think percentile values of normal subject is false located.”

The authors thank the comment from the reviewer and ensure that all the data included on table 1 was confirmed and re-located by the authors in the reviewed version of manuscript. Additionally, the quotation marks were all standardized with comma being substituted for dots accordingly to scientific writing style guidelines.

2) “2- Homogeneity of correlation graphic is not strong. There is a significant scattering in graphics correlation graphics between UFC and LNSc and also between serum cortizol and LNSc concentrations.”

The authors agree with the reviewer about the modest but statistically significant correlation found between LNSC and LNSeC as well with UFC in “proven CS” group. We emphasize that this fact can be explained by a slightly smaller number of samples from the same patient with these three screening methods (LNSc, LNSeC and UFC) explained in the “Discussion” section as a recognized study limitation (line 339 to 342). Nevertheless, the authors highlight that the positive and significant correlation found reassure that LNSaC is a reliable and high-quality test comparable with other classical screening tests on hypercortisolism.

To clarify this topic, the authors also re-wrote the sentence regarding the correlation between LNSaC, LNSeC and UFC included on “Discussion” section.

3) “Some revision is required for language “Our results give to LNSaC na excellent accuracy and reaffirm that can be used as a highly reliable non-invasive screening tool for outpatient assessment in agreement with previous studies” and “so an individualized cut-off and reference range (must be) → (is better) established by each laboratory”.”

The authors reviewed the entire manuscript regarding language and scientific writing style in order to improve quality and reading.

Revisor B:

1) “ Its a good paper very well planed and analysed and it should be accepted with minor revision”

The authors thank the positive input from the reviewer and hope to fulfil all the minor questions regarding the manuscript.

2) “ Results - row 263: the authors should clarify writing that the comparison for the ROC curve is between the normal group versus the proven CS patients group (i think)”

The authors integrally agree with the reviewer and reaffirm that the ROC curve was built from “proven CS” and “normal subjects” group data by ranking all the values and linking each value to the diagnosis - disease proven *vs.* healthy.

This detailed information was also added to the reviewed manuscript version as suggested by the reviewer.

3) “Discussion: the authors should discuss as well the eventual influence of non homogeneous BMI groups (proven CS have a bigger BMI) in the obtained ROC and cut off results.”

The authors assume the difference between each group BMI as exposed on Table.1.

From a clinical point of view, it is easy to explain the similarity between “Suspected CS” and “Proven CS” groups since clinical suspicious characteristics of hypercortisolism are rapid weight gain, increased abdominal fat and central obesity.

Despite this tendency to have higher BMI values, the authors did not find a statistically significant BMI difference between groups which eliminates this confounder factor from the analysis.

Additionally, higher late-night cortisol levels are associated with visceral adiposity in overweight/obese patients related to a higher 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity on visceral fat which promotes the conversion of cortisone to active cortisol. This fact emphasizes the importance of proving LNSC performance in “pseudo-Cushing” states that may subject the patient to unnecessary investigations and possible harmful interventions.

Revisor C:

1) Apresentação: o manuscrito é apresentado de uma forma clara e lógica? SIM

2) Recomendação de publicação: Acha que o manuscrito deve ser publicado na AMP? Porquê? Porque não? Recomendo que seja publicado

Trata-se de um trabalho original, bem desenhado, que teve como objetivo avaliar o valor diagnóstico e o ponto de corte do cortisol salivar noturno (23-24h), na Síndrome de Cushing, para a população portuguesa, recorrendo a um ensaio de eletroquimioluminescência automatizado (ECLIA). O doseamento do cortisol salivar noturno é, hoje em dia, aceite como um dos métodos de referência para o rastreio da Síndrome de Cushing. A definição de um ponto de corte individualizado, para cada população, é relevante. Só existe outro estudo, envolvendo uma população portuguesa, mas utilizou um radioimunoensaio (RIA) para doseamento do cortisol salivar.

Prioridade de publicação: em que ranking colocaria o manuscrito quanto à prioridade de publicação? Nos primeiros 10% Acho que deveria ser objeto de publicação prioritária, nos primeiros 10%

Os autores agradecem as palavras do Revisor C que enfatizam especificamente algumas das particularidades que pensamos que tornam o manuscrito interessante do ponto de vista de publicação numa revista de referência portuguesa.

O facto de não haver estudos publicados na população portuguesa com doseamento de Cortisol Salivar por ECLIA e a reconhecida necessidade de estabelecer pontos de corte individualizados para cada população constituíram os pilares da concepção do trabalho espelhado neste manuscrito.

A priorização da publicação sugerida pelo revisor em muito enaltece os autores, que reforçam novamente o agradecimento pelos comentários do revisor.