

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**INTOXICAÇÃO POR *Poiretia punctata* EM RUMINANTES E MEGAESÔFAGO
DE PROVÁVEL ORIGEM TÓXICA EM RUMINANTES**

EDUARDO MELO NASCIMENTO

PATOS-PB
2014



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**INTOXICAÇÃO POR *Poiretia punctata* EM RUMINANTES E MEGAESÔFAGO
DE PROVÁVEL ORIGEM TÓXICA EM RUMINANTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Medicina Veterinária.

Mestrando: Eduardo Melo Nascimento
Orientador: Franklin Riet-Correa

PATOS-PB
2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**INTOXICAÇÃO POR *Poiretia punctata* EM RUMINANTES E MEGAESÔFAGO
DE PROVÁVEL ORIGEM TÓXICA EM RUMINANTES**

Dissertação de Mestrado elaborada por

EDUARDO MELO NASCIMENTO

Aprovada em / / .

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Franklin Riet-Correa
UAMV da UFCG/CSTR/HV - PATOS/PB
(Orientador)

Prof. Dr. Fábio de Souza Mendonça
DMFA da UFRPE – RECIFE/PE

Prof. Dr. Gildenor Xavier Medeiros
UAMV da UFCG/CSTR/HV - PATOS/PB

**PATOS
2014**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

N244i Nascimento, Eduardo Melo

Intoxicação por *Poiretia punctata* em ruminantes e megaesôfago de provável origem tóxica em ruminantes / Eduardo Melo Nascimento. – Patos, 2014.

72f. : il. color.

Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2014.

“Orientação: Prof. Franklin Riet-Correa”

Referências.

1. Toxicologia veterinária. 2. Plantas tóxicas. 3. Ruminantes. I. Título.

CDU 615.9:619

Dedicatória

*Ao mar, animais e a todos que fizeram e
fazem parte da minha vida.*

Agradeço aos meus pais, Olavo Carvalho Nascimento e Maria Vitória Melo Nascimento, sempre brigando e mandando eu estudar, cobrando, incentivando e... o mais importante, confiando sempre em mim.

A todos do Laboratório de Patologia Animal (LPA). Que já passaram, que ainda estão aqui e que ainda vão passar..., Já que essa caminhada ainda não acabou!!!

A todos os professores, alunos, estagiários, funcionários da UFCG, vou lembrar sempre de todos, cada um, tem um lugar guardado.

Ao Prof. Dr. Franklin Riet-Correa, que confiou em mim e concordou me orientar, mesmo eu sempre vindo com projetos malucos ligados ao mar, mesmo o mar estando bem longe de Patos! Mas agradeço mais ainda pelas palavras sábias que escutei uma vez e que me incentivou mais do que nunca "...Primeiro tu te formas um patologista "Ra pá", depois tu te formas um patologista especializado na área que tu quiseres, do mar, da terra, do espaço... faça o teu melhor, que aí, você será muito bom no que tu vais escolher fazer..."

Aos amigos que deixei e aos que fiz em Patos, amigos de verdade, de farra, de festa, pescarias, mergulhos. Sim, sim... acreditem!!! mergulhos sim, nos açudes com pouca visibilidade foram momentos ímpares, que me ajudaram muito a matar a saudade do mar, uma das coisas que mais gosto na vida, e refrescar a cuca.

À coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

À todos muito obrigado!!

RESUMO

No Brasil, atualmente, o número de plantas tóxicas é de 131 espécies e 79 gêneros e aumenta permanentemente. Na região Nordeste há inúmeras plantas que causam intoxicação, já que há uma prolongada estação seca e muitos pecuaristas criam ovinos, caprinos e bovinos em pastagens nativas ou cultivadas, em sistema extensivo ou semiextensivo. Os surtos podem acontecer em diversas situações que dependem do acesso a planta no local, palatabilidade, facilitação social, fome, período de ingestão e dose tóxica dentre outros. O impacto negativo causado pelas intoxicações por plantas na pecuária justifica o desenvolvimento nas últimas décadas de um grande número de pesquisas para caracterizar a epidemiologia e desenvolver tecnologias de controle e profilaxia dessas intoxicações. Esta dissertação é formada por dois artigos originais: o primeiro, submetido à *Toxicon*, descreve a intoxicação por *Poiretia punctata* em ovinos e bovinos no estado de Sergipe. *P. punctata* é uma leguminosa, conhecida popularmente como “pela bucho”, descrita por produtores como responsável por intoxicações e mortes de bovinos e ovinos no estado de Sergipe. Nove propriedades foram visitadas para coletar dados clínicos e epidemiológicos, entre os anos de 2010 e 2012. Normalmente os animais eram encontrados já mortos ou morriam após um curso clínico de até 18 horas. Os sinais clínicos quando observados eram de andar cambaleante e quedas repentinas, muitas vezes seguidas de morte. A doença foi reproduzida experimentalmente em dois ovinos que receberam 40 g/kg de peso vivo da planta fresca e apresentaram apatia, andar cambaleante e perda de equilíbrio, ataxia, aumento da base de sustentação e cabeça baixa, ingurgitamento da jugular, quedas, trismo mandibular, opistótono, nistagmo, decúbito esternal evoluindo para decúbito lateral e movimentos de pedalagem. Os animais morreram após curso clínico de 3 e 8 horas, respectivamente. Dois bovinos que receberam 20g/kg de peso vivo, apresentaram apatia, anorexia e

permaneceram deitados olhando para o flanco recuperando-se posteriormente. Não foram encontradas lesões macroscópicas nem histológicas de significação. Conclui-se que *P. punctata* é uma planta tóxica que causa morte em ovinos e bovinos no estado de Sergipe. O segundo artigo submetido à *Ciência Rural* relata casos coletivos de megaesôfago em ovinos, caprinos e bovinos no estado da Paraíba. Megaesôfago uma enfermidade rara em ruminantes caracterizada por regurgitação do conteúdo ruminal. Neste trabalho descrevem-se dois surtos de megaesôfago em bovinos ovinos e caprinos. Em uma propriedade no município de Ibiara ocorreram 18 casos de megaesôfago em bovinos, com 12 mortes, em um rebanho de 200 animais. Em outra fazenda ocorreram dois casos em ovinos e um em caprino, de um rebanho de 50 caprinos e 40 ovinos, todos machos reprodutores. Todos os animais apresentaram regurgitação do conteúdo ruminal e emagrecimento, mas a evolução da doença foi diferente; enquanto os caprinos e ovinos apresentaram uma forma crônica, com evolução de vários meses, os bovinos apresentaram uma forma aguda, com evolução de 3-8 dias. Nas necropsias todos os animais apresentaram megaesôfago. Ao exame histológico observou-se necrose muscular segmentar no esôfago e músculos esqueléticos. Os dados epidemiológicos e a patologia sugeriram que a doença poderia ter sido causada por alguma planta tóxica, mas não foram encontradas plantas conhecidas por causarem necrose segmentar muscular nas áreas onde ocorreu a doença.

PALAVRAS-CHAVE: intoxicação por plantas, ruminantes, megaesôfago, *Poiretia punctata*, plantas tóxicas.

ABSTRACT

In Brazil there are 131 species and 79 genera of toxic plants and this number increases permanently. In the Northeastern region, plant poisonings are very important because there is an extended dry season and many farmers raise sheep, goats and cattle in native or cultivated pastures in extensive or semi-extensive systems. Outbreaks can occur in several situations that depend on access to the plant site, palatability, social facilitation, hunger, ingestion period and toxic doses, among others. The negative impact caused by plant poisoning in livestock justifies the development in the last decades a lot of research to characterize the epidemiology of these intoxications and to develop technologies for their control and prophylaxis. This dissertation consists of two original articles: the first submitted to *Toxicon*, describes the poisoning *Poiretia punctata* in sheep and cattle in the state of Sergipe. *P. punctata* is a legume, popularly known as "pela bucho", described by producers as responsible for poisonings and deaths of cattle and sheep in the state of Sergipe. Nine properties were visited to collect clinical and epidemiological data, between 2010 and 2012. Usually the animals were found dead or have died after a clinical course of up to 18 hours. The clinical signs were observed when the staggering gait and sudden falls, often followed by death. The disease has been reproduced experimentally in two sheep receiving 40 g/kg body weight and showed apathy, staggering gait and loss of balance, ataxia, increased support base and head down, engorgement of jugular falls mandibular trismus, opisthotonos, nystagmus progressing to sternal recumbency lateral recumbency and paddling. The clinical course of the animals died after 3 and 8 hours, respectively. Two animals that received 20g/kg of body weight, showed apath, anorexia and remained lying down looking to the side recovering later. No gross or histological lesions of significance were found. It is

concluded that *P. punctata* is a toxic plant that causes death in sheep and cattle in the state of Sergipe. The second article reports submitted to Rural Science collective cases of megaesophagus in sheep, goats and cattle in the state of Paraíba. Megaesophagus is a rare disease in ruminants characterized by regurgitation of rumen contents. This paper describes two outbreaks of megaesophagus in sheep and goats cattle. On a farm in the municipality of Ibiara 18 cases of megaesophagus in cattle occurred, with 12 deaths, in a herd of 200 animals. In another farm two cases in sheep and in goats, a herd of 50 goats and 40 sheep, all breeding males occurred. All animals showed regurgitation of rumen contents and weight loss, but the evolution of the disease was different, while goats and sheep showed a chronic form, an increase of several months, the cattle have an acute form, an increase of 3-8 days. In necropsy all animals showed megaesophagus. Histological examination showed segmental muscle necrosis in the esophagus and skeletal muscles. Epidemiological data and pathology suggested that the disease could have been caused by some toxic plant, but not known plants have been found to cause segmental muscle necrosis in areas where the disease occurred.

KEY WORDS: Poisoning by plants, ruminant, megaesophagus, *Poiretia punctata*, toxic plants.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE TABELAS	13
INTRODUÇÃO	14
REFERÊNCIAS	14
CAPÍTULO I	16
Intoxicação por <i>Poiretia punctata</i> (Fabaceae) em ovinos e bovinos	16
RESUMO	18
INTRODUÇÃO	19
MATERIAL E MÉTODOS.....	20
RESULTADOS	22
DISCUSSÃO	25
REFERÊNCIAS	26
CAPÍTULO II.....	27
Casos coletivos de megaesôfago em ovinos, caprinos e bovinos no estado da Paraíba.	27
RESUMO	28
ABSTRACT	29
MATERIAL E MÉTODOS.....	31
RESULTADOS	32
DISCUSSÃO	38
REFERÊNCIAS	40
ANEXOS.....	43
1. Poisoning by <i>Poiretia punctata</i> in cattle and sheep.....	44
2. Normas para submissão da revista Toxicon	53
3. Normas para submissão da revista Ciência Rural.....	70

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I Intoxicação por *Poiretia punctata* (Fabaceae) em ovinos e bovinos. **Erro! Indicador não definido.**

Figura 1. *Poiretia punctata* coletada em Arauá, Sergipe 199

Figura 2. Ovino 2, intoxicado experimentalmente por *P. punctata* mostrando posição com base ampla e cabeça baixa com marcada depressão. 244

CAPÍTULO II..... **Erro! Indicador não definido.**27

Casos coletivos de megaesôfago em ovinos, caprinos e bovinos no estado da Paraíba.

..... **Erro! Indicador não definido.**

Figura 1. A) Severa dilatação do esôfago, que pode ser evidenciada pela comparação com o diâmetro da traquéia, que é normal. B) Esôfago do bovino 2 mostrando severa degeneração e necrose afetando tanto a camada muscular circular interna quanto a camada longitudinal externa. Há uma grande área central (*) onde as fibras musculares foram substituídas por proliferação de núcleos do sarcolema e células inflamatórias. HE. Obj. 10x C) Maior aumento da foto anterior mostrando uma área com severa proliferação de células satélites e restos de miofibras degeneradas e necróticas. HE. Obj. 40x D) Maior aumento da foto 1C mostrando núcleos em fileira (seta) dentro de fibras em regeneração. HE. Obj. 40x..... 37

Figura 2. A) Ovino 1 regurgitando e com boca manchada de conteúdo ruminal regurgitado. B) Esôfago dilatado e aumentado de volume quando comparado com a traqueia a direita da foto e com a aorta acima. C) Corte histológico submacroscópico do esôfago do Ovino 1 mostrando severa dilatação evidenciada pela parede extremamente delgada. D) Corte histológico do músculo bíceps femoral mostrando necrose segmentar, caracterizada por eosinofilia de fibras. HE. Obj. 20x..... 38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados de peso dos animais, dose da planta fornecida, tempo entre coleta e administração, sinais clínicos, início dos sinais clínicos e evolução do quadro na intoxicação experimental por *P. punctata* em ovinos e bovinos. 211

Tabela 2. Número de casos e espécies acometidas nos anos de 2010, 2011 e 2012. ... 233

INTRODUÇÃO

Produtores rurais frequentemente relatam problemas e prejuízos econômicos em suas propriedades, muitas vezes relacionados a plantas tóxicas que causam surtos envolvendo bovinos, caprinos e ovinos. Produtores no estado de Sergipe comumente relatam surtos de morte súbita em bovinos e ovinos, e atribuem essas mortes a *Poiretia punctata* (Willd.) Desv., que é uma leguminosa da família Fabaceae, que no Brasil, ocorre nos estados do Ceará, Pernambuco, Paraíba, Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Goiás, ocupando áreas de campo sujo, mata de galeria, encosta de matas e beiras de estrada (MULLER et al. 1984).

Megaesôfago é uma disfunção esofágica (TORRES, 1997) rara em pequenos ruminantes, com causas não bem definidas (RAMADAN, 1993). A doença pode ser congênita (SHELTON et al. 2003) ou adquirida (McGAVIN, 2013). Os sinais comumente observados são de dilatação do esôfago, repleto com saliva ou alimento, sialorréia, regurgitação e tosse (SCHERMAN, 2008).

Neste trabalho objetivou-se descrever surtos de morte súbita em bovinos e ovinos no estado de Sergipe causados por *P. punctata* e descrever uma doença caracterizada por regurgitação e megaesôfago com lesões de necrose segmentar muscular, de provável origem tóxica em bovinos, ovinos e caprinos no estado da Paraíba.

Referências

- MULLER, C. Revisão taxonômica do gênero *Poiretia* Vent. (Leguminosae) para Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.146p. 1984.
- McGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. Bases da Patologia em Veterinária. Rio de Janeiro, Elsevier, 5ª edição, 1344p. 2013.

- RAMADAN, R. O. Megaesophagus in a goat, *Agri-Practice* 14;26. 1993.
- SCHERMAN, A. D. Megaesôfago e atrofia muscular da cabeça secundários a miastenia grave em uma cadela da raça Rottweiler – relato de caso. *Ensaio e Ciência: Ciências Biológica, Agrárias e da Saúde, Campo Grande*, v. 12, p. 197-203. 2008.
- SHELTON, G. D. Distúrbios musculares e de junção neuromuscular. In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING R. G. *Manual Saunders de clínica de pequenos animais*. 2ª Edição, São Paulo: Roca, p. 1438. 2003.
- TORRES, P. Megaesôfago en el perro. Revisión bibliográfica y proposición de una nueva clasificación. *Archivos de Medicina Veterinária, Valdivia*, v.29, n.1, p.13-23. 1997.

CAPÍTULO I

Intoxicação por *Poiretia punctata* (Fabaceae) em ovinos e bovinos.

Trabalho enviado à Toxicon (Anexo 1).

Intoxicação por *Poiretia punctata* (Fabaceae) em ovinos e bovinos.

Eduardo Melo Nascimento, Rosane Maria Trindade Medeiros, Stephen T. Lee,
Franklin Riet-Correa

Autor para correspondência: Franklin Riet-Correa, Hospital Veterinário, CSTR,
Universidade Federal de Campina Grande, Av. Universitária, SN, Bairro Santa Cecília,
Patos-PB, 58.708-110. E-mail: franklin.riet@pq.cnpq.br

Intoxicação por *Poiretia punctata* (Fabaceae) em ovinos e bovinos

Eduardo M. Nascimento^a, Rosane M. T. Medeiros^a, Stephen T. Lee^b, Franklin Riet-Correa^{a1}

^a *Laboratório de Patologia Animal, Hospital Veterinário, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos, PB, CEP 58708-110, Brasil*

^b *Poisonous Plant Research Laboratory, Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture, 1150 E. 1400 N., Logan, Utah 84341, USA.*

RESUMO

Poiretia punctata é uma leguminosa, conhecida popularmente como “pela bucho”, descrita por produtores como responsável por intoxicações e mortes de bovinos e ovinos no estado de Sergipe. Mortes de bovinos e ovinos atribuídos à ingestão de *P. punctata* ocorreram em sete propriedades, no período seco, observando-se mortes de animais isolados ou surtos, geralmente em épocas de pouca disponibilidade de forragem. Em uma propriedade adoeceram, entre março e maio de 2012, 19 bovinos; dos quais 10 morreram e nove se recuperaram. Em outra propriedade morreram nove ovinos em maio de 2012. Os animais eram encontrados mortos ou morriam após um curso clínico de até 18 horas. A doença foi reproduzida experimentalmente em ovinos e bovinos. Dois ovinos que receberam 40 g/kg de peso vivo da planta fresca coletada 1 e 48 horas antes da administração morreram após curso clínico de 3 e 8 horas, respectivamente. Um ovino que recebeu a mesma dose, cinco dias após a colheita, apresentou sinais clínicos e recuperou-se em 24 horas. Dois ovinos que receberam doses únicas de 20 g/kg e um que recebeu três doses diárias de 20 g/kg apresentaram sinais clínicos e se recuperaram. Dois bovinos que ingeriram planta fresca, recém-colhida, apresentaram sinais clínicos e se recuperaram. Os sinais clínicos dos ovinos que morreram caracterizaram-se por apatia, andar cambaleante e perda de equilíbrio, ataxia, aumento da base de sustentação e cabeça baixa, ingurgitamento da jugular, quedas, trismo mandibular, opistótono, nistagmo, decúbito esternal evoluindo para decúbito lateral e movimentos de pedalagem. Os ovinos que não morreram e os bovinos apresentaram sinais mais leves. Não foram encontradas lesões macroscópicas nem histológicas de significação. Conclui-

¹Hospital veterinário, Universidade Federal de Campina Grand, Patos, Paraíba, Brasil, 59700-000. *Autor para correspondência, E-mail: franklin.riet@pq.cnpq.br

se que *P. punctata* é uma planta tóxica que causa morte em ovinos e bovinos no estado de Sergipe.

Palavras chaves: *Poiretia punctata*, plantas tóxicas, intoxicação por plantas, ovinos, bovinos.

INTRODUÇÃO

Poiretia punctata (Willd.) Desv., da família Fabaceae, conhecida por produtores rurais de Sergipe como “pela bucho” e “erva verdadeira” (Fig. 1). No Brasil ocorre nos estados do Ceará, Pernambuco, Paraíba, Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Goiás, ocupando áreas de campo, campos sujos, matas de galeria, encostas de matas e beira de estradas (Muller et al. 1984).



Figura 1. *Poiretia punctata* coletada em Arauá, Sergipe

No sul do estado de Sergipe, *P. punctata* é mencionada por produtores como uma planta que causa sinais clínicos hiperagudos ou agudos e morte em ovinos e bovinos. A planta é conhecida como pela bucho, aparentemente por que muitos animais são encontrados mortos na pastagem, sem demonstrar nenhum sinal clínico e com um razoável grau de autólise, que faz com que haja desprendimento do epitélio dos pré-estômagos.

Objetiva-se com este trabalho relatar históricos de mortes em ovinos e bovinos, em propriedades no município de Arauá, Sergipe, associados à ingestão de *P. punctata* e reproduzir experimentalmente a intoxicação por *P. punctata* em ovinos e bovinos.

MATERIAL E MÉTODOS

Exsiccatas preparadas com amostras da planta foram enviadas para identificação para o botânico Dr. Odací de Oliveira, da Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), localizada no município de Mossoró, Rio Grande do Norte.

A presença de nitratos ou glicosídeos cianogênicos foi avaliada em amostras frescas de *P. punctata* usando o teste da difenilamina e o teste de papel picrossódico (Riet-Correa et al. 1993), respectivamente. Duas amostras secas da planta inteira foram enviadas para o Plant Research Laboratory em Logan, EUA, para ser analisado para a presença de monofluoracetato de sódio por HPLC-APCI-MS (Lee et al. 2012).

Os dados epidemiológicos e clínicos dos surtos foram obtidos mediante visitas e entrevistas realizadas com os produtores em suas respectivas propriedades.

Para a reprodução experimental da intoxicação foram utilizadas plantas coletadas em uma fazenda do Município de Arauá (11°14'58.81"S e 37°37'50.11"O), estado de Sergipe. Os experimentos foram realizados em uma fazenda (11°17'08.06"S e 37°37'51.27"O) próxima ao local de coleta da planta e no Hospital Veterinário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Campus de Patos, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba. A planta foi administrada experimentalmente a seis ovinos, sem raça definida, fêmeas e machos, com idade de 4 a 20 meses com peso de 8 a 22 kg de peso vivo, e a dois bovinos machos, com peso entre 55 e 70 kg de peso vivo. Três ovinos e um bovino foram utilizados como controle. As doses administradas, peso corporal dos animais e o tempo transcorrido desde a coleta até a administração apresentam-se na Tabela 1. A planta foi coletada diretamente no pasto e transportada em sacos de nylon até o local onde foi realizado o experimento. As folhas, flores e vagens foram separadas dos ramos manualmente e administradas por via oral, sendo oferecidas ao animal diretamente na boca, em pequenas quantidades, para que o mesmo mastigasse e a deglutisse.

Tabela 1. Dados de peso dos animais, dose da planta fornecida, tempo entre coleta e administração, sinais clínicos, início dos sinais clínicos e evolução do quadro na intoxicação experimental por *P. punctata* em ovinos e bovinos.

Animal	Peso (kg)	Dose (g/kg)	Tempo entre coleta e administração	Sinais clínicos	Início dos sinais após a ingestão	Evolução
Ovino 1	8	Única (40)	5dias	Leves	1:00h	Recuperou-se em 24 horas
Ovino 2	15	Única (40)	1 h	Severos	1:30h	Óbito em 3 horas
Ovino 3	22	Única (20)	1 h	Leves	1:30 h	Recuperou-se em 24 horas
Ovino 4	20	3 doses (20) a cada 24hs	1 h	Leves	1:30 h	Recuperou-se em 24 horas
Ovino 5	18	Única (20)	22 h	Leves	2:00 h	Recuperou-se em 24 horas
Ovino 6	15	Única (40)	48 h	Severos	40mim	Óbito em 8 horas
Ovino 7	19	Controle	-	Ausentes	-	-
Ovino 8	21	Controle	-	Ausentes	-	-
Ovino 9	14	Controle	-	Ausentes	-	-
Bovino 1	55	Única (20)	1 h	Leves	1:00h	Recuperou-se em 24 horas
Bovino 2	70	Única (20)	1 h	Leves	1:00h	Recuperou-se em 24 horas
Bovino 3	90	Controle	-	Ausentes	-	-

Em todos os animais foram aferidos os batimentos cardíacos, os movimentos respiratórios e ruminais e a temperatura retal, antes do início do experimento e a cada hora após a ingestão. Nos ovinos 5, 6, 8 e 9 foram obtidas amostras de sangue, com e sem anticoagulante, e amostras de urina antes da administração da planta e duas horas após. Foram realizados hemograma, urinálise e determinação das atividades séricas de creatinoquinase (CK), aspartatoaminotransferase (AST), gama-glutamyltransferase (GGT) e das concentrações séricas de uréia e creatinina de acordo com (THRALL, et al. 2012).

Realizou-se necropsia e avaliação histopatológica dos animais que morreram em consequência das intoxicações experimentais. Para avaliação histológica os órgãos das cavidades abdominais e torácica e o sistema nervoso central foram coletados e fixados em formol tamponado a 10%, incluídos em parafina e corados pelas técnicas de hematoxilina e eosina.

RESULTADOS

Surtos espontâneos

Todas as fazendas estavam localizadas no município de Arauá, Sergipe. Em sete fazendas ocorreram mortes esporádicas que os produtores associavam com o consumo da planta. Em duas fazendas ocorreram surtos da doença com morte de vários animais em um período curto. Na fazenda Nossa Senhora da Esperança ocorreu um surto em ovinos, no mês de maio de 2012. Em um rebanho de 68 ovinos, machos e fêmeas, adultos e jovens, morreram nove animais adultos. Os animais eram criados de forma semiextensiva, soltos diariamente pela manhã no pasto e presos ao fim da tarde em aprisco. O total da propriedade é de aproximadamente 400 hectares divididos em 5 áreas. A área em que os animais se encontravam, com aproximadamente 32 hectares, era de pastagem nativa. Os ovinos, que tinham sido soltos pela manhã, não retornaram ao aprisco e foram encontrados mortos na manhã seguinte.

A planta foi identificada como *Poiretia punctata* (Willd.) Desv. Um exemplar está tombado no Herbário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Campus de Patos, Paraíba, com o registro de N° 3987. Os testes de difenilamina e papel picrossódico foram negativos para a presença de nitritos e ácido cianídrico, respectivamente e não foi detectado monofluoroacetato de sódio na planta.

Os surtos ocorreram principalmente na época de estiagem quando a planta ainda continuava verde, distribuída entre a pastagem já seca. Os resultados das entrevistas com produtores referentes ao número de casos e espécies acometidas estão representados na Tabela 2.

Tabela 2. Número de casos e espécies acometidas nos anos de 2010, 2011 e 2012.

Fazenda	Animais mortos pela intoxicação (informação dos proprietários)						Total
	2010		2011		2012		
	Ovinos	Bovinos	Ovinos	Bovinos	Ovinos	Bovinos	
Bahia		1		4			5
Buril		2		1			3
Contendas	2			2			4
Vermelho		2		4		10	16
Tuim		1					1
Bugizinho		1				1	2
Bugimirin	2				1		3
Bachão				1		1	2
N.S.Esperança					9		9
Total	4	7		12	10	12	45

O surto em bovinos ocorreu na Fazenda Vermelho entre os meses de março e maio 2012, em um rebanho de 54 animais entre machos e fêmeas. Dezenove bovinos apresentaram sinais clínicos; destes, nove se recuperaram e 10 morreram. Os animais eram criados de forma extensiva, em pastagem de vegetação nativa. Dos 10 animais que morreram, seis foram encontrados mortos no pasto, dois estavam em decúbito esternal permanente e dois apresentavam andar cambaleante. A morte ocorreu 3-18 horas após a observação dos sinais clínicos. Os nove animais que se recuperaram apresentaram apatia, isolamento do rebanho e relutância a movimentar-se, permanecendo em decúbito

esternal por longos períodos. A recuperação ocorreu em um período de 12 a 24 horas após a observação dos sinais. O proprietário relatou que os animais com sinais brandos se recuperaram caso sejam deixados sem movimentar. Alguns produtores relataram que ocasionalmente fizeram a abertura da cavidade abdominal e abertura do rumem constatando a presença da planta em quantidade razoável no seu interior.

Em todas as fazendas visitadas havia *P. punctata* em quantidades variáveis e os produtores relataram que procediam a arrancar a planta após a ocorrência de mortes associadas à mesma, como forma de prevenir a intoxicação.

Reprodução experimental da intoxicação.

Ovinos. A presença de sinais clínicos nos ovinos experimentais e a evolução da intoxicação apresentam-se na Tabela 1. Os ovinos 1, 3, 4 e 5, que se recuperaram apresentaram anorexia, diminuição dos movimentos ruminais, apatia, incoordenação e perda de equilíbrio. Os Ovinos 2 e 6, que morreram, apresentaram anorexia, diminuição dos movimentos ruminais, apatia, andar cambaleante, perda de equilíbrio, ataxia, posição com base ampla e cabeça baixa (Fig. 2), quedas, ingurgitamento da jugular, trismo mandibular, opistótono e nistagmo. O quadro evoluiu para decúbito esternal, seguindo para decúbito lateral e movimento de pedalagem, seguidos de morte. Não foram observados sinais clínicos nos Ovinos 7, 8 e 9 (controles).



Figura 2. Ovino 2, intoxicado experimentalmente por *P. punctata* mostrando posição com base ampla e cabeça baixa com marcada depressão.

Bovinos. A presença de sinais clínicos nos bovinos experimentais e a evolução da intoxicação apresentam-se na Tabela 1. Nos Bovinos 1 e 2 observou-se apatia e anorexia. Os animais se deitavam frequentemente, olhando para o flanco e permanecendo deitados por vários minutos. O Bovino 3 (controle) não apresentou sinais.

Não foram observadas alterações significativas na urinálise, hemograma, atividades séricas de AST, GGT e CK e concentrações séricas de uréia e creatinina.

DISCUSSÃO

A presença de *P. punctata* em todas as fazendas visitadas e a reprodução experimental da intoxicação mediante a administração da planta em ovinos e bovinos, com sinais clínicos e evolução semelhante aos mencionados pelos proprietários, confirma que *P. punctata* é uma planta tóxica para bovinos e ovinos, provavelmente responsável por mortalidades no Estado de Sergipe.

A intoxicação é aguda e os principais sinais clínicos observados sugerem que é uma planta que afeta principalmente o sistema nervoso. Em alguns aspectos, os sinais clínicos apresentados são semelhantes aos causados por plantas que contêm monofluoracetato de sódio (MFA), incluindo *Amorimia rigida*, *Amorimia septentrionalis*, *Amorimia exotropa*, *Palicourea marcgravii* e *Palicourea aenofusca* (Tokarnia et al. 2012, Lee et al. 2012). No entanto, em experimentos em coelhos, com a planta dessecada, a mesma não foi tóxica (dados não publicados) sugerindo que o princípio ativo não é o MFA, já que o coelho é uma espécie extremamente sensível ao MFA e as plantas que contem esta substância não perdem a toxicidade após a dessecação (Tokarnia et al. 2012). Além disso a planta foi negativa para a presença de MFA. As intoxicações por nitratos e nitritos e ácido cianídrico causam, também, sinais clínicos semelhantes aos observados na intoxicação por *P. punctata*, no entanto, a planta foi negativa para a presença dessas substâncias. Por outro lado *P. punctata* foi tóxica a doses relativamente baixas e as plantas que contêm nitratos ou ácido cianídrico tem que ser ingeridas em grandes quantidades para causar intoxicação.

Os sinais clínicos e o curso agudo, semelhantes aos observados em outras doenças, e a ausência de lesões macroscópicas ou histológicas significantes dificultam o diagnóstico da intoxicação, sendo de fundamental importância para o mesmo a

observações da presença da planta e das condições epidemiológicas nas que ocorre a intoxicação. Os dados epidemiológicos mencionados pelos produtores sugerem que as intoxicações ocorrem principalmente durante a época seca, quando há carência de forragem e *P. punctata* permanece verde por mais tempo que o capim que se encontra seco.

Como se desconhecem o princípio ativo de *P. punctata* e alguns fatores epidemiológicos que determinam a intoxicação é difícil estabelecer técnicas adequadas de controle, exceto a recomendação de evitar o pastejo de animais em áreas onde ocorre *P. punctata* ou eliminar a mesma dessas áreas.

Em conclusão *P. punctata* é uma planta tóxica para bovinos e ovinos no Estado de Sergipe, que causa intoxicação aguda com sinais clínicos do sistema nervoso central. Novos estudos são necessários para determinar a epidemiologia da intoxicação e o princípio ativo da planta, o que permitirá estabelecer medidas de controle adequadas.

REFERÊNCIAS

- Lee S.T., Cook D., Riet-Correa F., Pfister J.A., Anderson W.R., Lima F.G., Gardner D., 2012. Detection of monofluoracetate in *Palicourea* and *Amorimia* species. *Toxicon* 60:791-796.
- Muller, C. 1984. Revisão taxonômica do gênero *Poiretia* Vent. (Leguminosae) para o Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 146p.
- Riet-Correa F., Méndez M.C. & Schild A.L. 1993. Intoxicação por Plantas e Micotoxicoses em Animais Domésticos. Editorial Agropecuária Hemisfério Sul, Montevideo. 340p.
- Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V., Dobereiner J. 2012. Plantas Tóxicas do Brasil. Editora Helianthus, Rio de Janeiro, 586p.
- Thrall, M.A., Weiser, G., Alisson, R., Campbel, T.W., 2012. *Veterinary and Clinical Chemistry*. Second ed. Wiley-Blacwell. Oxford.

CAPÍTULO II

Casos coletivos de megaesôfago em ovinos, caprinos e bovinos no estado da Paraíba.

Trabalho enviado à revista Ciência Rural.

Casos coletivos de megaesôfago em ovinos, caprinos e bovinos no estado da Paraíba.

Eduardo Melo Nascimento^{II}; Édipo Moreira Campos^{II}, Fabrício Kleber de Lucena Carvalho^{II}; Eldinê Gomes de Miranda Neto^{II}; Lisanka A. Maia^{II}, Rosane M. T. Medeiros^{II}, Maria Dalva Bezerra de Alcântara^{III}, Sara Dantas Vilar^{II}, Franklin Riet-Correa^{II*}

RESUMO

Megaesôfago é uma enfermidade rara em ruminantes caracterizada por regurgitação do conteúdo ruminal. Neste trabalho descrevem-se dois surtos de megaesôfago em bovinos ovinos e caprinos no Estado da Paraíba. Em uma propriedade no município de Ibiara ocorreram 18 casos de megaesôfago em bovinos, com 12 mortes, em um rebanho de 200 animais. Em outra fazenda ocorreram dois casos em ovinos e um em caprino, de um rebanho de 50 caprinos e 40 ovinos, todos machos reprodutores. Todos os animais apresentaram regurgitação do conteúdo ruminal e emagrecimento, mas a evolução da doença foi diferente; enquanto os caprinos e ovinos apresentaram uma forma crônica, com evolução de vários meses, os bovinos apresentaram uma forma aguda, com evolução de 3-8 dias. Nas necropsias todos os animais apresentaram megaesôfago. Ao exame histológico observou-se necrose muscular segmentar no esôfago e músculos esqueléticos. Os dados epidemiológicos e a patologia sugeriram que a doença poderia ter sido causada por alguma planta tóxica, mas não foram encontradas plantas conhecidas por causarem necrose segmentar muscular nas áreas onde ocorreu a doença.

Palavras-chave: megaesôfago, regurgitação, necrose muscular, ruminantes.

^I Hospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Av. Universitária, SN, Bairro Santa Cecília, Patos-PB, 58.708-110. *Autor para correspondência E-mail: franklin.riet@pq.cnpq.br

^{II} Empresa Paraibana de Pesquisa Agropecuária – Emepa, Pendência-PB, 58155-000.

ABSTRACT

Megaesophagus is a rare disease in ruminants characterized by regurgitation of rumen contents. In this paper we describe two outbreaks of megaesophagus in sheep, cattle and goats in the state of Paraíba, Northeastern Brazil. On a farm in the municipality of Ibiara, 18 cases of megaesophagus in cattle occurred, with 12 deaths, in a herd of 200 bovines. In another farm, occurred two cases in sheep and one in goats, from a herd of 50 goats and 40 sheep, all breeding males. All animals showed regurgitation of rumen contents and weight loss, but the evolution of the disease was different; while goats and sheep showed a chronic form, with a clinical course of several months, cattle have an acute form, with a clinical course of 3-8 days. At necropsy all animals presented megaesophagus. Histological examination showed segmental muscle necrosis in the esophagus and skeletal muscles. Epidemiological data and pathology suggested that the disease could have been caused by some toxic plant, but known plants causing segmental muscle necrosis were not observed in the areas where the disease occurred.

Key words: megaesophagus, regurgitation, muscle necrosis, ruminants.

INTRODUÇÃO

O esôfago é um importante órgão do sistema digestivo. Em ruminantes, é responsável pelo transporte de líquidos e sólidos da boca ao estômago, pela eructação e pela regurgitação do bolo alimentar para a ruminação (SPILLMANN, 2007). Em ruminantes, ao contrário de outras espécies, a camada muscular do esôfago é composta somente por fibras estriadas esqueléticas (McGAVIN, 2013).

Megaesôfago é uma disfunção esofágica, que resulta da atonia da musculatura do esôfago caracterizada por flacidez e dilatação luminal, em consequência de uma

disfunção motora segmental ou difusa do corpo do esôfago (TORRES, 1997). A doença tem sido descrita em diversas espécies domésticas, sendo relativamente comum em cães (MILLER et al., 1983). A enfermidade é rara em pequenos ruminantes e as causas de sua ocorrência não são bem definidas (RAMADAN, 1993).

A doença pode ser congênita, comumente de caráter hereditário, com anormalidades no desenvolvimento da inervação esofágica, persistência do quarto arco aórtico direito ou ainda pela disfunção do nervo vago (SHELTON et al., 2003). Em búfalos da raça Murrah, foi descrito megaesôfago congênito possivelmente de causa hereditária (DAME et al., 2013). Pode ocorrer também de forma adquirida, em consequência de obstrução do esôfago por alimentos, compressão, presença de corpo estranho, neoplasia, parasitoses, hérnias do hiato e a trauma faringeano (McGAVIN, 2013).

Os sinais comumente observados são de dilatação do esôfago, repleto com saliva ou alimento, anorexia, ansiedade, inquietação, sialorréia, tentativas vigorosas de deglutição, regurgitação, tosse, movimentos de mastigação contínuos, debilidade geral e, ocasionalmente, pneumonia aspirativa (SCHERMAN, 2008). Nos ruminantes o megaesôfago pode causar timpanismo por impedir a eructação (RADOSTITS et al. 2007). Animais com megaesôfago eventualmente sucumbem aos efeitos da subnutrição crônica, podendo ocorrer pneumonia por aspiração (SPILLMANN, 2007). Na África do Sul, plantas do gênero *Geigeria* foram descritas como tóxicas para ovinos, causando regurgitação crônica, tosse, apatia e diarreia. Bovinos também são afetados com sinais de salivação e megaesôfago, mas raramente ocorre regurgitação (KELLERMAN et al., 2005).

Objetivou-se com esse trabalho descrever os sinais clínicos e patologia de ovinos, caprinos e bovinos em dois surtos de uma doença caracterizada por regurgitação e megaesôfago no estado da Paraíba.

MATERIAL E MÉTODOS

As informações e os dados epidemiológicos sobre os surtos foram obtidos com o produtor ou com os técnicos responsáveis em uma propriedade situada no município de Ibiara, Paraíba, onde ocorreram casos em bovinos, e na Estação Experimental de Pendência (EMEPA) no município de Soledade, Paraíba, onde ocorreram casos em ovinos e caprinos. Além disso, foram realizadas duas visitas à propriedade no município de Ibiara e cinco visitas à Estação Experimental da EMEPA-PB.

Os animais com sinais clínicos tiveram a frequência cardíaca, frequência respiratória e movimentos ruminais aferidos. No surto estudado no município de Ibiara, amostras de sangue dos bovinos foram colhidas em tubos contendo o anticoagulante EDTA, para a realização de hemograma (hematócrito, contagem de hemácias e volume corpuscular médio) e mensuração das proteínas totais plasmáticas e em tubos sem anticoagulante, para a determinação da bioquímica sérica creatinoquinase (CK) aspartatoaminotransferase (AST), gama-glutamilttransferase (GGT), uréia e creatinina. Para as análises bioquímicas as amostras foram centrifugadas e o soro obtido foi congelado em microtubos plásticos. As amostras foram processadas no Laboratório de Patologia Clínica da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Clínica de Bovinos de Garanhuns e no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos.

No município de Pendência, na EMEPA, dois ovinos e um caprino afetados foram encaminhados ao Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina

Grande Campus de Patos, Paraíba. O ovino 1 permaneceu internado por 48 dias, o ovino 2 permaneceu por 60 dias na primeira internação e por 8 dias na segunda e o caprino 1 ficou internado por um dia. Após o período de internação os animais foram eutanasiados. No município de Ibiara, dois bovinos severamente afetados foram eutanasiados e necropsiados. Para avaliação histológica órgãos da cavidade abdominal e torácica, sistema nervoso, esôfago e músculos esqueléticos (língua, diafragma, tríceps braquial, psoas maior, redondo maior, semimembranoso, masseter, longuíssimo lombar, temporal e bíceps femoral) foram coletados e fixados em formol tamponado a 10%, processados rotineiramente e corados pelas técnicas de hematoxilina e eosina (HE).

RESULTADOS

O surto em bovinos ocorreu em uma propriedade no município de Ibiara no ano de 2013. Na propriedade o rebanho permanecia em duas áreas distintas: 200 animais eram criados em uma área a leste da propriedade onde ocorreram 18 casos da doença com 12 mortes e a recuperação de 6 animais; e 70 animais eram criados em outra área a oeste onde não ocorreu nenhum caso clínico. Os primeiros casos clínicos ocorreram no dia 4 de abril, após as primeiras chuvas que se iniciaram no dia 20 de março e se estenderam até o dia 12 de abril.

Observações epidemiológicas na propriedade sugeriram que os sinais clínicos foram provocados pela planta *Bernardia sidoides* conhecida popularmente como canela preta, que é uma planta herbácea terófito da família Euphorbiaceae, que possui uma ampla distribuição no Brasil, ocorrendo na mata atlântica e na caatinga (SILVA et al., 2002). Na área da propriedade onde ocorreram os casos observaram-se animais pastejando em áreas extremamente invadida pela planta, na outra área da propriedade onde não ocorreram casos clínicos não se observou a presença da planta.

Os animais apresentaram apatia, hiporexia, lacrimejamento contínuo, timpanismo, salivação constante com saliva viscosa formando longos fios, secreção nasal viscosa em alguns casos amarelada, focinho ressecado e com acúmulo de sujidades, tosse seca e regurgitação de conteúdo ruminal fluido e esverdeado e com presença de pedaços de folhas; por vezes o mesmo conteúdo era expelido pelas narinas, principalmente quando os animais eram movimentados ou abaixavam a cabeça. Havia diminuição dos movimentos ruminais e fezes em quantidade diminuída, ressecadas e recobertas de muco viscoso e brilhoso. Na palpação retal observou-se e ausência de fezes na ampola retal e presença de muco viscoso e brilhoso amarelado. Posteriormente ocorria emagrecimento progressivo, decúbito esternal, evoluindo para lateral e seguido de morte após curso clínico de 3 a 8 dias. Seis bovinos se recuperaram em 8-14 dias, após terem sido recolhidos ao curral da propriedade, e fornecido *Pennisetum purpureum* (capim elefante) cortado, concentrado e água no coxo.

Na análise hematológica dos 4 animais que foram atendidos a campo a única alteração foi o hematócrito elevado (52%, 60%, 68% e 55%), quando comparado ao padrão da espécie (24% - 46% KANEKO, 1997). Para a bioquímica sérica das amostras de soro sanguíneo, observou-se que a atividade sérica da enzima CK estava aumentada em todos os animais (194,3; 421,8; 291,4 e 242,9 UI L⁻¹) quando comparada ao padrão da espécie (4,8-12 UI L⁻¹, KANEKO, 1997). A atividade sérica da enzima AST mostrou-se próxima do nível máximo (99,5 e 125,7 UI L⁻¹) em dois animais e muito elevada (246,2 e 429,5 UI L⁻¹) em outros dois, quando comparadas com o padrão da espécie (78-132 UI L⁻¹, KANEKO, 1997).

O bovino 1 foi eutanasiado após apresentar caquexia e desidratação grave. Na necropsia, o esôfago apresentava-se dilatado e flácido (Fig. 1A), repleto com a mesma secreção descrita na regurgitação. O rumem estava distendido e repleto de gás com a

mucosa enegrecida e o conteúdo ressecado, compactado, enegrecido e em pouca quantidade. O retículo, omaso e abomaso tinham pouco conteúdo. Os intestinos apresentavam gás no seu interior e pouquíssimo conteúdo.

Na histologia observou-se esôfago com degeneração e necrose segmentar difusa e severa tanto na camada muscular circular interna quanto na camada longitudinal externa da túnica muscular (Fig. 1B). Em grande parte as fibras musculares estavam substituídas por proliferação de células satélites e, em menor número, macrófagos e outras células inflamatórias, principalmente mononucleares. A degeneração das fibras era visualizada por citoplasma fragmentado e eosinofílico (Fig. 1C). Havia marcada regeneração de fibras musculares caracterizadas por formação de miotubos de pequenos diâmetros com citoplasma levemente basofílico e núcleos centrais em fileiras (Fig. 1D).

No músculo diafragma, observaram-se em algumas áreas isoladas fibras com citoplasma eosinofílico, ausência das estriações transversais e retração e condensação nuclear. Não se observaram lesões significativas em outros músculos esqueléticos, plexos nervosos e nervos esofágicos, nem em outros órgãos das cavidades abdominal e torácica e SNC.

O bovino 2 estava caquético e foi eutanasiado. Na necropsia, o rumem continha pouco conteúdo esverdeado e fluido e o esôfago estava dilatado, com áreas pálidas distribuídas aleatoriamente, com conteúdo fluido esverdeado. Ao exame histopatológico as lesões do esôfago eram semelhantes às do bovino 1, porém com menor intensidade. Não se observaram lesões significativas nos músculos esqueléticos nem em outros órgãos.

O surto com ovinos e caprinos ocorreu na Estação Experimental de Pendência, no município de Soledade. A estação possuía 270 animais entre caprinos e ovinos de diferentes idades. Os animais afetados pertenciam a um rebanho de 50 caprinos e 40

ovinos, todos reprodutores machos, que eram criados em regime semi-extensivo sendo soltos pela manhã em um piquete, medindo 50 hectares de pastagem nativa de caatinga, e presos ao final da tarde onde consumiam volumoso de capim *Brachiaria*, feno de capim *Buffel*, silagem de milho e sorgo e concentrado de milho e soja. Foram afetados dois ovinos e um caprino, que apresentaram um quadro de regurgitação e perda de peso progressivo.

O ovino 1 era um macho, de 3 anos de idade, da raça Dopper. Foi trazido ao Hospital Veterinário da UFCG em outubro de 2010 com histórico de regurgitação e perda de peso. Há aproximadamente 20 dias o animal regurgitava seguidamente e no piso da baia observava-se grande quantidade de conteúdo ruminal regurgitado. No exame clínico geral foi observada desidratação moderada, fezes diarreicas e boca manchada com conteúdo ruminal regurgitado (Fig. 2A). O conteúdo ruminal líquido saía pelo canto da boca no momento da ruminação. O animal permaneceu no HV durante dois meses e devido ao emagrecimento progressivo foi eutanasiado. Soro sanguíneo deste animal foi examinado para anticorpos de língua azul, com resultado negativo.

Na necropsia foi observada dilatação do esôfago que se estendia da porção inicial até a porção final (Fig 2B). Nas porções crânio ventrais do pulmão foram vistas áreas avermelhadas, consolidadas, apresentando nódulos multifocais amarelados.

Histologicamente, no esôfago foram observadas áreas de degeneração e necrose segmentar muscular caracterizadas por degeneração das fibras musculares, com citoplasma fragmentado e eosinofílico com tumefação nuclear e cromatina escassa. Lesões de necrose segmentar semelhantes as do esôfago foram observadas também nos músculos semimembranoso, longuíssimo lombar e bíceps femoral (Fig 2D). Lesões

mais discretas foram vistas nos músculos da língua, temporal, diafragma, psoas maior e redondo maior. Os demais órgãos não apresentavam lesões significantes.

O ovino 2, um macho, de 5 anos de idade, da raça Dopper, foi trazido para o HV em outubro de 2010, apresentando sinais de regurgitação menos intensos do que o ovino 1. O quadro era estável e o ovino retornou para Pendência em dezembro de 2010. Em setembro de 2011 continuava com os mesmos sinais clínicos e foi trazido novamente para HV e eutanasiado. No exame clínico observava-se dificuldade de apreensão dos alimentos e regurgitação do conteúdo ruminal. Após a segunda internação o animal permaneceu no hospital durante 8 dias. Durante esse período verificou-se que a regurgitação do conteúdo ruminal na maioria das vezes acontecia 40 a 60 minutos após a ingestão de alimentação e a noite. O animal foi encaminhado para necropsia, após 11 meses do quadro clínico inalterado.

Na necropsia o principal achado macroscópico foi uma dilatação do esôfago. No exame histológico, observaram-se no esôfago, masseter, semimembranoso, longuíssimo lombar e tríceps braquial áreas de necrose segmentar das fibras musculares, semelhantes às observada no ovino 1 de intensidade moderada. Nos músculos diafragmático e no temporal a necrose segmentar afetava menor número de fibras. Os demais órgãos não apresentavam lesões significantes.

O caprino 1 era um macho, de 2 anos e 9 meses de idade, da raça Saanen. Foi atendido no HV em Abril de 2012, com histórico de perda de peso e regurgitação. No exame clínico animal estava apático e magro. O animal foi encaminhado para necropsia após um dia de internamento. Na necropsia foi observada dilatação do esôfago. Histologicamente o esôfago e os músculos esqueléticos mostravam áreas de necrose segmentar, semelhantes às descritas nos ovinos, com intensidade variando de leve a moderada. Estas lesões foram observadas nos diversos músculos coletados, tendo maior

intensidade no esôfago, masseter, semimembranoso, longuíssimo lombar, e tríceps braquial.

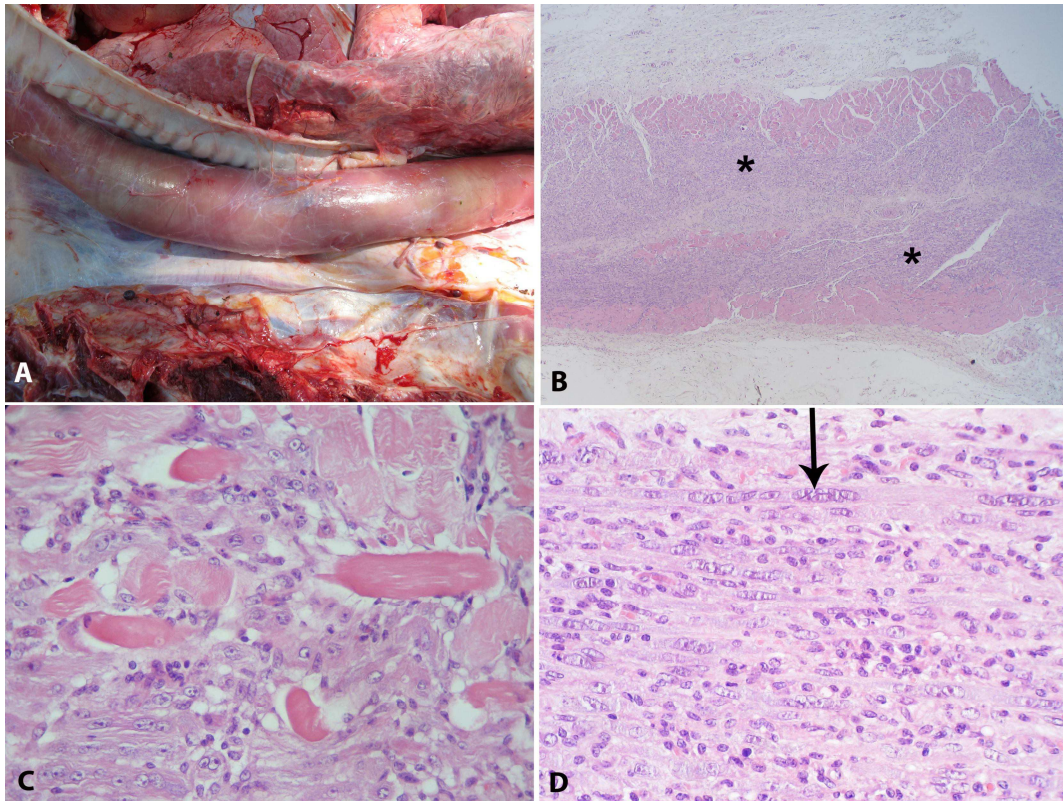


Figura 1. A) Severa dilatação do esôfago, que pode ser evidenciada pela comparação com o diâmetro da traqueia, que é normal. B) Esôfago do bovino 1 mostrando severa degeneração e necrose afetando tanto a camada muscular circular interna quanto a camada longitudinal externa. Há uma grande área central (*) onde as fibras musculares foram substituídas por proliferação de células satélites e células inflamatórias. HE. Obj. 10x. C) Maior aumento da foto anterior mostrando uma área com severa proliferação de células satélites e restos de miofibras degeneradas e necróticas. HE. Obj. 40x. D) Maior aumento da foto 1C mostrando núcleos em fileira (seta) dentro de fibras em regeneração. HE. Obj. 40x

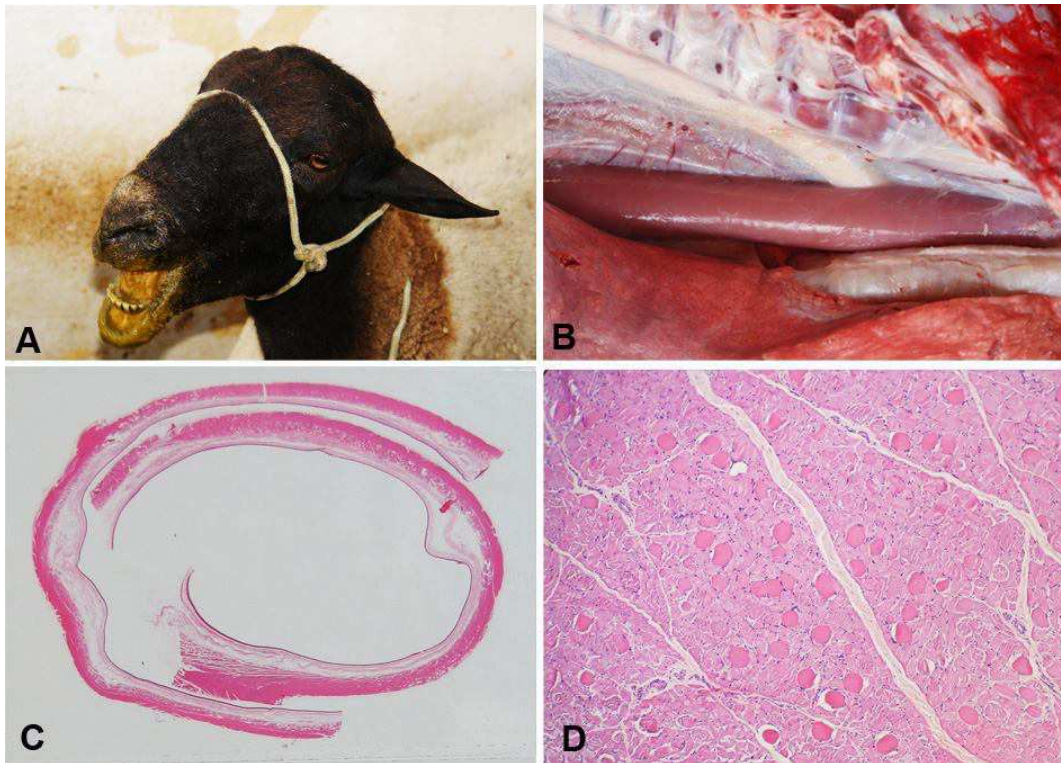


Figura 2. A) Ovino 1 regurgitando e com boca manchada de conteúdo ruminal regurgitado. B) Esôfago dilatado e aumentado de volume quando comparado com a traqueia a direita da foto e com a aorta acima. C) Corte histológico submacroscópico do esôfago do Ovino 1 mostrando severa dilatação evidenciada pela parede extremamente delgada. D) Corte histológico do músculo bíceps femoral mostrando necrose segmentar, caracterizada por eosinofilia de fibras. HE. Obj. 20x.

DISCUSSÃO

A doença é caracterizada por necrose segmentar muscular, afetando principalmente a musculatura do esôfago e músculos esqueléticos e causando megaesôfago e regurgitação. Megaesôfago é uma doença rara em ruminantes e normalmente se observa em casos individuais (DAME et al., 2013). Nos dois surtos descritos neste trabalho a doença afetou vários animais, que permaneciam em uma mesma área, o que sugere que possa ser causada por uma planta tóxica.

Os sinais clínicos de megaesôfago e as lesões macroscópicas e histológicas foram semelhantes em bovinos, ovinos e caprinos, porém com evolução diferente; enquanto os caprinos e ovinos apresentaram uma forma crônica da doença, os bovinos apresentaram a forma aguda. Considerando que a doença fosse causada por um único agente, essas diferenças poderiam ser devidas ao grau de exposição ou a diferente susceptibilidade entre espécies.

Apesar de que os principais sinais são referentes ao megaesôfago, todos os animais apresentaram lesões de necrose segmentar muscular em diversos músculos. No entanto, as plantas conhecidas no Brasil como causantes deste tipo de lesão, *Senna occidentalis* e *Senna obtusifolia* (TOKARNIA et al., 2012) não foram encontradas nas áreas onde pastejavam os rebanhos afetados. Também não havia histórico de suplementação com antibióticos ionóforos (RISSI, 2010) ou de deficiência de Se e vitamina E (AMORIM et al. 2005) que também podem levar a lesões e necrose muscular, porém não são associadas a lesões esofágicas.

Plantas do gênero *Geigeria*, na África do Sul são tóxicas para ovinos e bovinos, provocando um quadro de salivação, tosse, regurgitação, megaesôfago, apatia e diarreia. Algumas espécies desse gênero são mais tóxicas que outras, sendo a *G. aspera* a mais tóxica do grupo, seguido da *G. ornativa*, *G. pectidea* e *G. burkei*. Dentre as espécies existe também variação de toxicidade de acordo com a fase da planta. A toxicidade é maior logo após a estação chuvosa quando a planta está crescendo e à medida que a planta vai secando perde sua toxicidade gradativamente (KELLERMAN, et al. 2005). Plantas do gênero *Geigeria* não são reportadas no Brasil.

No caso dos bovinos, os dados epidemiológicos sugeriram que a doença tenha sido pela ingestão da planta *Bernardia sidoides*. Essa planta foi testada em dois bovinos na dose de 20g/kg de peso vivo, num período de 5 e 8 dias respectivamente, sem que se

observassem sinais clínicos; no entanto exames laboratoriais mostraram que, após o início da administração da planta houve um aumento das atividades séricas da enzima CK no bovino 1, de 97,14 UI L⁻¹ para 145,7 UI L⁻¹ e no bovino 2 de 145,7 UI L⁻¹ para 218,6 UI L⁻¹. Para a enzima AST, no bovino 1 o aumento foi de 52,38 UI L⁻¹ para 62,86 UI L⁻¹ e no bovino 2, de 62,86 UI L⁻¹ para 73,33 UI L⁻¹ (dados não publicados). É possível que a não reprodução da doença com esta planta seja devido que a mesma perca a toxicidade à medida que amadurece, pois imediatamente após a coleta de *B. sidoides* os casos deixaram de acontecer. Novos experimentos deverão ser realizados para comprovar a toxicidade de *B. sidoides* no início da estação chuvosa, época na que ocorreu o surto em bovinos.

REFERÊNCIAS

- AMORIM, S.L. et al. Distrofia muscular nutricional em ovinos na Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.25, p.120-124. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100736X2005000200010&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 04 set. 2013. doi: 10.1590/S0100-736X2005000200010.
- DAME, M.C.F. et al. Doenças hereditárias e defeitos congênitos diagnosticados em Búfalos (*Bubalus bubalis*) no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.33, p.831-839, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100736X2013000700001&lng=en&nrm=iso>. Acessado em 05 out. 2013 doi: 10.1590/S0100-736X2013000700001.
- KANEKO, J.J. et al. (eds.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th edition, Academic Press, San Diego, 1997, 932p.
- KELLERMAN, T.S. et al. **Plant poisonings and mycotoxicoses of livestock in Southern Africa**. Republic of Southern Africa: Oxford University Press. 2005, p.131-137.
- MAcGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. **Bases da Patologia em Veterinária**. Rio de Janeiro, Elsevier, 5^a edição, 2013, 1344p.
- MILLER, L.M. et al. Congenital myasthenia gravis in 13 smooth fox terriers. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.182, p.694-697, 1983.

RADOSTITS, O.M. et al. **Veterinary Medicine**. 10th ed. Elsevier: London, 2007, 2156p.

RAMADAN, R. O. Megaesophagus in a goat. **Agri-Practice**, v.14, p.26-28, 1993.

RISSI, D.R. et al. Intoxicação espontânea por antibióticos ionóforos em ovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.30, p.219-221, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100736X201000030005&lng=en&nrm=iso>. Acesso: 02 set. 2013, doi:10.1590/S0100-736X2010000300005.

SCHERMAN, A. D. et al. Megaesôfago e atrofia muscular da cabeça secundários a miastenia grave em uma cadela da raça Rottweiler – relato de caso. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológica, Agrárias e da Saúde**, v.12, p.197-203, 2008. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=26012806017>>. Acesso: 9 set. 2013.

SHELTON, G.D. Distúrbios musculares e de junção neuromuscular. In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING R. G. **Manual Saunders de clínica de pequenos animais**. 2^a edição, São Paulo: Roca, 2003, p.1438.

SILVA, S.I. et al. Uma visão de Euphorbiacea em Pernambuco. In: SILVA, J.M.; TABARELLI, M. (eds.). **Diagnóstico da biodiversidade do estado de Pernambuco**, Recife. Editora Massagana. 2002, p.331-341.

SPILLMANN, T. Esophageal diseases diagnostic and therapeutic approach. In: **Annual WSAVA congress**, 32. Sydney. Proceedings Sydney: WSAVA Congress. 2007.

TOKARNIA, C.H. et al. **Plantas Tóxicas do Brasil**. 2^a ed. Editora Helianthus, Rio de Janeiro, 2012, 566p.

TORRES, P.. Megaesófago en el perro. Revisión bibliográfica y proposición de una nueva clasificación. **Archivos de Medicina Veterinária**, v.29, 1997. Disponível em: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301732X1997000100002&lng=es&nrm=iso>. Acesso em: 17 nov. 2013. doi: 10.4067/S0301-732X1997000100002.

CONCLUSÕES

Com a realização destes dois trabalhos, pode-se acrescentar dados sobre as intoxicações por plantas em animais de produção para o Brasil, principalmente para o Nordeste.

Casos de megaesôfago com regurgitação do conteúdo ruminal ocorrem em ruminantes na região semiárida do nordeste e são provavelmente causados por uma planta tóxica.

A *Poiretia punctata* é uma planta tóxica para bovinos e ovinos no Estado de Sergipe, que causa intoxicação aguda com sinais clínicos do sistema nervoso central.

Mais estudos devem ser realizados sobre as intoxicações por plantas e os conhecimentos devem ser repassados para produtores com a finalidade de minimizar perdas econômicas.

ANEXOS

Poisoning by *Poiretia punctata* in cattle and sheep

Eduardo M. Nascimento^a, Rosane M. T. Medeiros^a, Stephen T. Lee^b, Franklin Riet-Correa^{all}

^a Veterinary Hospital, Federal University of Campina Grande, Patos, CEP 58700-310, Paraíba, Brazil.

^b Poisonous Plant Research Laboratory, Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture, 1150 E. 1400 N., Logan, Utah 84341, USA.

ABSTRACT

Poiretia punctata (Willd.) Desv. was associated with cattle and sheep poisoning in nine farms in the State of Sergipe, northeastern Brazil. The animals were found dead or died later after showing clinical signs for up to 18 hours. Two sheep that ingested 40 g/kg body weight (g/kg) of fresh *P. punctata* died three and eight hours after ingestion, respectively. Another sheep that ingested 40 g/kg five days after plant collection showed mild clinical signs and recovered after 2-4 hours. Two sheep that received 20 g/kg and another that ingested three daily doses of 20 g/kg showed clinical signs, but recovered. Two cattle that ingested 20 g/kg of the fresh plant exhibited clinical signs and recovered. The clinical observations of poisoning were depression, ataxia, loss of equilibrium, broad-based stance, head down, falls, mandibular trismus, opisthotonus, nystagmus, and recumbence. Significant gross and histologic lesions were not observed. Samples of *P. punctata* were analyzed for nitrates, cyanogenic glycosides, and sodium monofluoracetate with negative results. It is concluded that *P. punctata* is a toxic plant that caused death in cattle and sheep in the State of Sergipe, but further work will be required to determine the toxic compound.

Key words: *Poiretia punctata*, toxic plants, plant poisoning, sheep, cattle.

^{all} Corresponding author. Tel.: 55 83 34239734; fax: 55 83 34239537. E-mail address: franklin.riet@pq.cnpq.br (F. Riet-Correa).

1. Introduction

Poiretia punctata (Willd.) Desv .of the Fabaceae family (Fig. 1) occurs in the Brazilian States of Ceará, Pernambuco, Paraíba, Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, and Goiás and occupies pastures, disturbed areas, forests, hillsides, and along roadsides (Muller 1984).

In southern Sergipe, a plant identified as *P. punctata* has been reported by livestock owners as a plant that causes acute clinical signs and death in sheep and cattle. Farms in the municipality of Arauá, Sergipe, were visited to investigate the poisoning of sheep and cattle by *P. punctata*. In addition, sheep and cattle were fed *P. punctata* under controlled conditions to reproduce the poisoning.

2. Material and methods

Pressed plants amples were identified by Dr. Odaci de Oliveira, Federal Rural University of the Semiárid, Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil.

The presence of nitrates or cyanogenic glycosides was evaluated in fresh samples of *P. punctata* using the diphenylamine and picrosodic paper tests (Riet-Correa et al. 1993), respectively. Two dried samples of the whole plant were sent to the Poisonous Plant Research Laboratory in Logan, USA, to be analyzed for the presence of sodium monofluoroacetate by HPLC-APCI-MS (Lee et al. 2012).

Epidemiological data were obtained by visits to the farms and interviews with farmers in their respective properties. For the experimental reproduction of the poisoning *P. punctata* was collected in a farm in the County of Arauá (S1°14'58.81" and W37°37'50.11"), State of Sergipe. The experiments were performed on a farm near the plant collection site and at the Veterinary Hospital in Patos, Paraíba. The plant was experimentally administered to six, 4-20 month old, male and female crossbred hair sheep, weighing 8-20 kg and to two crossbred calves weighing 55 and 60 kg. Three sheep and one calf were used as controls. Administered doses, body weight of the animals and time elapsed from plant collection to administration are shown in Table 1. The plant was collected in the pasture and transported in nylon bags. The leaves, flowers and pods with seeds were manually separated from branches and were orally administered by repeatedly putting small amounts into the mouths of the animals.

Heart rates, respiratory and ruminal movements, and rectal temperature were determined in each experimental animal before the start of the experiment and every

hour after plant ingestion. In sheep 5, 6, and 9 serum samples were collected by jugular venipuncture into vacutainer tubes with and without anticoagulant before plant administration and during the observation of clinical signs. Urine samples were also collected at the same time. Hemogram, urinalysis and determination of serum activities of creatine phosphokinase(CPK), aspartate aminotransferase(AST) and gamma glutamylt ransferase(GGT) and serum urea and creatinine concentrations were measured in accordance with Thrall et al. (2012).

The sheep that died were necropsied. Samples of organs of abdominal and thoracic cavities, and central nervous system were collected, fixed in 10% formalin, processed routinely by embedding in paraffin and stained with hematoxylin-eosin for histological examination. All animal procedures were approved by the Bioethics Committee at the Federal University of Campina Grande, Patos, Paraíba, and performed under veterinary supervision.

3. Results

The plant reported by the livestock owner as causing the poisoning was identified as *Poiretia punctata* (Willd.) Desv. A voucher specimen of the plant was authenticated and deposited in the Centro de Saúde e Tecnologia Rural Herbarium – CSTR (HCSTR 3987).

Spontaneous poisoning

Death of livestock associated with the ingestion of *P. punctata* was reported by livestock owners from nine different farms. In seven of those farms the death of cattle or sheep associated with the consumption of the plant was sporadic. In two farms, outbreak of the disease caused death of several animals in a short period of time. In Farm 4, in a three month period (March to May 2012), 19 of 54 cattle grazing in a native pasture exhibited clinical signs, and 10 died and 9 recovered. From the 10 animals that died, six were found dead in the pasture, two were in permanent sternal recumbence and two showed a staggering gait and died 3-18 hours after first observation of clinical signs. The nine animals that recovered showed apathy, isolation from the herd and reluctance to move. They remained sternally or laterally recumbent for long periods. They eventually recovered 20 to 24 hours after the first observation of clinical signs.

In farm 9, the livestock owner reported the death of nine adult sheep from a flock of 68 of different ages. The animals were grazing in native pastures during the day

and were housed overnight in pens. The total area of the farm was approximately 400 hectares divided into five paddocks. When the flock was grazing in a paddock of approximately 32 hectares, nine sheep did not return to the pens and were found dead in the next morning. *Poiretia punctata* was found in different amounts in all pastures inspected. The poisoning occurred in native pastures during the dry season, when there is shortage of high quality forage and *P. punctata* is still green. The results of the interviews with the livestock owners corresponding to the number of cases and affected species are shown in Table 1. Some livestock owners reported that they occasionally opened the rumen of the dead animals and found the presence of *P. punctata* in reasonable quantities in the rumen contents. Livestock owners reported that they have hand pulled *P. punctata* to remove it from their land to avoid livestock deaths from the plant.

The diphenylamine and the picrosodic paper tests were negative for the presence of nitrite and hydrogen cyanide, respectively. MFA was not detected in any of the samples analyzed.

Experimental poisoning

The observation of clinical signs in experimental sheep and cattle and the outcome of the poisoning are shown in Table 2. Sheep 1, 3, 4, and 5, which recovered, showed anorexia, reduced ruminal movements, apathy, incoordination, and loss of balance. Sheep 2 and 6, which died, showed anorexia, reduced ruminal movements, apathy, staggering gait, loss of balance, ataxia, broad-based stance, and head down (Fig. 2). Falls, distended jugular vein, mandibular trismus, opisthotonus, and nystagmus were also observed. The condition progressed to sternal recumbence, leading to lateral recumbence and pedaling movements followed by death. No clinical signs were observed in Sheep 7, 8 and 9 (controls). Calves 1 and 2 showed apathy and anorexia. The animals often remained in sternal or laterally recumbency, looking to one side for several minutes. Calf 3 (control) showed no signs.

There were no significant changes observed in urinalysis, complete blood count, serum activities of AST, GGT and CPK and serum urea and creatinine. No significant changes were observed during the necropsies or upon histologic examination of the various tissues.

4. Discussion

The presence of *P. punctata* in all farms visited and the experimental reproduction of the poisoning in sheep and cattle with clinical signs and a clinical manifestation period similar to those mentioned by the farmers confirm that *P. punctata* is a toxic plant to cattle and sheep in the State of Sergipe.

The intoxication is acute and clinical signs suggest that it is a plant that primarily affects the nervous system. In some aspects, the clinical signs are similar to those caused by plants that contain MFA, including *Amorimia rigida*, *Amorimia septentrionalis*, *Amorimia exotropa*, *Palicourea marcgravii* and *Palicourea aenofusca* (Tokarnia et al., 2012, Lee et al. 2012), but the absence of MFA in plant samples that caused death when dosed to experimental animals eliminates this possibility. The fresh plant was also negative for the presence of nitrates and cyanogenic glycosides. The poisoning by those substances also cause clinical signs similar to those observed in *P. punctata* poisoning, but plants containing nitrates or cyanogenic glycosides have to be eaten in large amounts in a short period of time, where as *P. Punctata* was toxic at a relative low dose of 20g/kg bw. The lack of gross or microscopic lesions suggests insufficient time for tissue damage to appear, and that further investigation may uncover a biochemical mechanism for the toxicity.

The diagnosis of the poisoning should be based on the presence of the plant and the occurrence of acute signs in the absence of gross and histological lesions. Besides the poisonings by plants containing MFA, nitrates and nitrites, and cyanogenic glycosides the differential diagnosis should considerer other acute diseases, including infections by *Bacillus anthracis*(anthrax), *Clostridium chauvoei* (black leg), *Clostridium novyitype D* (bacillary hemoglobinuria), and babesiosis caused by *Babesia argentina* (tick fever).

Presently, the only way to prevent livestock poisoning by *P. punctata* is to not allow access to the plant. The effectiveness of current measures to remove the plants such as hand pulling or the use herbicides is not known. Further studies are needed to determine the toxic compound of the plant, which may allow the establishment of appropriate control measures.

Acknowledgements

This work was supported by National Institute for Science and Technology for the Control of Plant Poisonings, CNPq, grant 573534/2008-0.

References

- Lee, S.T., Cook, D., Riet-Correa, F., Pfister, J. A., Anderson, W.R., Lima, F.G., Gardner, D., 2012. Detection of monofluoroacetate in *Palicourea* and *Amorimia* species. *Toxicon* 60:791-796.
- Muller, C., 1984. Revisão taxonômica do gênero *Poiretia* Vent. (Leguminosae) para o Brasil. Master thesis. State University of Campinas, Campinas, 146p.
- Riet-Correa F., Méndez M.C. & Schild A.L. 1993. Intoxicação por Plantas e Micotoxicoses em Animais Domésticos. Editorial Agropecuária Hemisferio Sur, Montevideo. 340p.
- Tokarnia, C.H., Brito, M.F., Barbosa, J.D., Peixoto, P.V., Dobereiner, J., 2012. Plantas Tóxicas do Brasil. Editora Helianthus, Rio de Janeiro, 586p.
- Thrall, M.A., Weiser, G., Alisson, R., Campbell, T.W., 2012. Veterinary and Clinical Chemistry. Second ed. Wiley-Blackwell. Oxford.

List of figures

Figure 1. *Poiretia punctata* in the municipality of Arauá, Sergipe.



Figure 2. Sheep 2, experimentally poisoned by *P. punctata* showing a broad-based stance and head down with marked depression.

1
2

Table 1. Data from animal weight, dose of the plant provided, time between collection and administration, clinical signs, on set of clinical signs and the progression of the poisoning by *P. punctata* in sheep and cattle.

Animal	Weight (kg)	Dose (g/kg)	Time from collection to management	Clinical signs	Early signs of ingestion	Evolution
Sheep1	8	Single (40)	5 dias	Mild	1:00h	Recovered in 24 hours
Sheep2	15	Single(40)	1 h	Severe	1:30h	Death in 3 hours
Sheep3	22	Single(20)	1 h	Mild	1:30 h	Recovered in 24 hours
Sheep4	20	3 doses (20) every 24hs	1 h	Mild	1:30 h	Recovered in 24 hours
Sheep5	18	Single(20)	22 h	Mild	2:00 h	Recovered in 24 hours
Sheep6	15	Single(40)	48 h	Severe	40mim	Death in 8 hours
Sheep7	19	Control	-	Absent	-	-
Sheep8	21	Control	-	Absent	-	-
Sheep9	14	Control	-	Absent	-	-
Cattle1	55	Single(20)	1 h	Mild	1:00h	Recovered in 24 hours
Cattle2	70	Single(20)	1 h	Mild	1:00h	Recovered in 24 hours
Cattle3	90	Control	-	Absent	-	-

Table 2. Number of cases and species affected in the years 2010, 2011 and 2012.

Farm	Animals killed by poisoning (Information for properties)						Total
	2010		2011		2012		
	Sheep	Cattle	Sheep	Cattle	Sheep	Cattle	
Bahia		1		4			5
Buril		2		1			3
Contendas	2			2			4
Vermelho		2		4		10	16
Tuim		1					1
Bugizinho		1				1	2
Bugimirin	2				1		3
Bachão				1		1	2
N.S.Esperança					9		9
Total	4	7		12	10	12	45

NORMAS PARA SUBMISSÃO DA REVISTA TOXICON

DESCRIPTION

Toxicon's "aims and scope" are laid down in the journal as:

To publish: articles containing the results of original research on problems related to toxins derived from animals, plants and microorganisms papers on novel findings related to the **chemical, pharmacological, toxicological, and immunological** properties of natural **toxins molecular biological** studies of toxin and other **genes** from **poisonous** and **venomous** organisms that advance understanding of the role or function of toxins clinical observations on poisoning and envenoming where a new therapeutic principle has been proposed or a decidedly superior clinical result has been obtained material on the use of toxins as tools in studying biological processes and material on subjects related to **venom** and **antivenom** problems review articles on problems related to **toxinology**. And To encourage the exchange of ideas, sections of the journal may be devoted to Short Communications, Letters to the Editor and activities of the International Society on Toxinology.

Toxicon strives to publish articles that are current and of broad interest and importance to the toxinology research community. Emphasis will be placed upon articles that further the understanding and knowledge of toxinology.

Types of paper

Full-Length Research Papers: Articles containing the results of original research on problems related to toxins derived from animals, plants and microorganisms.

Short Communications: Short communications differ from full manuscripts only in that the research study does not lend itself to an extended presentation. Even though brief, the Short communication should represent a complete, coherent and self contained study. The quality of Short Communications is expected to be as good as that of full articles, and both full articles and Short communications will be refereed in an identical manner. The form is identical to that for a full article except that the report should not be divided into Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion. An abstract of not more than 75 words should be provided. The Short Communication may not be longer than five double-spaced typewritten pages (not including references, tables and figures) and should include not more than two tables of two figures or one of each.

AUTHOR INFORMATION PACK 7 Feb 2014 www.elsevier.com/locate/toxicon 2

Letters to the Editor: These may be published if judged by the Editor to be of interest to the broad field of toxinology or of special significance to a smaller group of workers in a specialized field of toxinology. They should be headed 'Letter to the Editor' which should be followed by a title for the communication. Names of authors and affiliations should be at the end of the letter.

Announcements: *Toxicon* will only accept for publication announcements of great interest to toxinologists, such as notices of appropriate meetings and symposia and activities of the International Society of Toxinology.

Reviews and mini-Reviews: Articles of interest to toxinologists which are published in journals other than *Toxicon* may be abstracted in the Reviews section of *Toxicon*.

Readers who feel that a particular article or book should be abstracted in this section are encouraged to bring their opinions to the attention of one of the Review Editors. Mini-Reviews and proposals for mini-Reviews are welcome

Molecular Biology: Papers on molecular biological aspects of toxins are welcome. They can include cloning, expression, genetic and related studies. The papers must add to the understanding of the role or function of toxins. Papers providing cDNA sequences without any relevant conclusions are not acceptable. If cDNA sequences are included, authors must guarantee that the sequences will be deposited in a public gene bank before the publication of the paper in *Toxicon*.

Clinical reports: *Toxicon* will publish clinical reports on poisoning where a new therapeutic principle has been proposed or a decidedly superior clinical result has been established. Please observe the following: Clinical Reports Guidelines

Classic Toxins: The main aim of these articles is to educate and inform both the experienced scientist and new scientists entering the field of toxinology. These articles should serve as a reference guide for anyone using toxins. Please contact Dr. Ed Rowan with your suggestions for inclusion in the 'classic toxins' feature.

AUDIENCE

Toxicologists, toxinologists, molecular biologists and chemists.

IMPACT FACTOR

2012: 2.924 © Thomson Reuters Journal Citation Reports 2013

ABSTRACTING AND INDEXING

BIOSIS

Cambridge Scientific Abstracts

Chemical Abstracts

Current Contents/BIOMED Database

Current Contents/Life Sciences

Current Contents/SciSearch Database

Current Contents/Science Citation Index

EMBASE

EMBiology

Elsevier BIOBASE

MEDLINE®

PASCAL/CNRS

Research Alert

Scopus

AUTHOR INFORMATION PACK 7 Feb 2014 www.elsevier.com/locate/toxicon 3

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

Alan L. Harvey, Strathclyde Institute for Drug Research (SIDR), Strathclyde Institute of Pharmacy and Biomedical Sciences (SIPBS), University of Strathclyde, The John Arbuthnott Building, 27 Taylor Street, Glasgow, G4 0NR, UK, Fax: 44 141 552 8376 ,

Email: toxicon@strath.ac.uk

Honorary Editors

Philip Rosenberg, 37 Lincoln Avenue, West Orange, NJ 07052-2333, USA

Review Editor

Peter N. Strong, Sheffield Hallam University, Division of Biomedical Sciences, Sheffield, S1 1WB, UK

Mini-Review Editors

Yara Cury, Lab. de Fisiopatologia, Instituto Butantan, Av. Vital Brazil, 1500, 05503-900 São Paulo, Brazil

Raymond S. Norton, Medicinal Chemistry and Drug Action, Inst. of Pharmaceutical Sciences, Fac. of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Monash University, Parkville Campus, 381 Royal Parade, Parkville, VIC 3052, Australia

Classic Toxins Review Editor

Edward G. Rowan, Dept. of Physiology and Pharmacology, Strathclyde Inst. of Pharmacy and Biomedical Sciences, University of Strathclyde, Sir John Arbuthnott Building, 27 Taylor Street, Glasgow, G4 0NR, UK

Editorial Council

K. Aktories, Freiburg, Germany

I. Asuzu, Nsukka, Nigeria

G.L. Boyer, Syracuse, USA

B.W. Brooks, Waco, TX, USA

J.J. Calvete, Valencia, Spain

C.R. Carlini, Porto Alegre RS, Brazil

E.E. Creppy, Bordeaux Cedex, France

F. Ducancel, Gif-Sur-Yvette, France

M. Edery, Paris Cedex 05, France

J.W. Fox, Charlottesville, VA, USA

P. Gopalakrishnakone, Singapore

J.M. Gutiérrez, San José, Costa Rica

R.A. Harrison, Liverpool, UK

W.C. Hodgson, Clayton, VIC, Australia

R.J. Huxtable, Tucson, AZ, USA

G.K. Isbister, Callaghan, NSW, Australia

M. Ismail, Cairo, Egypt

E. Kalapothakis, Belo Horizonte, MG, Brazil

W.R. Kem, Gainesville, FL, USA

G.F. King, St. Lucia, Queensland, Australia

R.M. Kini, Singapore, Singapore

I. Krizaj, Ljubljana, Slovenia

M. Lazdunski, Valbonne, France

R.J. Lewis, St Lucia, QLD, Australia

F.S. Markland Jr., Los Angeles, CA, USA

M.-F. Martin-Eauclaire, Marseille, France

D. Mebs, Frankfurt, Germany

E. Moczydlowski, Albuquerque, NM, USA

C. Montecucco, Padova, Italy

B.A. Neilan, Sydney, NSW, Australia

G.M. Nicholson, Sydney, NSW, Australia

B.M. Olivera, Salt Lake City, UT, USA

S. Pflugmacher, Berlin, Germany

M.A. Poli, Ft. Detrick, MD, USA

L.D. Possani, Cuernavaca, Mexico

S.M.T. Serrano, Sao Paulo, Brazil

W.T. Shier, Minneapolis, MN, USA

K. Sivonen, Helsinki, Finland

T. Tamiya, Tokyo, Japan

A. Tubaro, Trieste, Italy

J. Tytgat, Leuven, Belgium

D.A. Warrell, Oxford, UK

J. White, North Adelaide, SA, Australia

AUTHOR INFORMATION PACK 7 Feb 2014 www.elsevier.com/locate/toxicon 4

Y. Zhang, Yunnan, China

R.B. Zingali, Rio de Janeiro, Brazil

International Society on Toxinology

Secretary-Treasurer

Professor Julian White, Toxinology Department, Women's & Children's Hospital;
North Adelaide SA

5006, Australia; www.toxinology.org; Phone: +(61)(0)8-8161 7000, Fax: +(61)(0)8-81618024, **Email:**

julian.white@adelaide.edu.au

AUTHOR INFORMATION PACK 7 Feb 2014 www.elsevier.com/locate/toxicon 5

GUIDE FOR AUTHORS

Your Paper Your Way

ppyw-gfa-banner.gif your way

INTRODUCTION

Official Journal of The International Society on Toxinology (<http://www.toxinology.org/>), *Toxicon's*

"aims and scope" are laid down in the journal as:

To publish: articles containing the results of original research on problems related to toxins derived from animals, plants and microorganisms papers on novel findings related to the chemical, pharmacological, toxicological, and immunological properties of natural toxins molecular biological studies of toxin and other genes from poisonous and venomous organisms that advance understanding of the role or function of toxins clinical observations on poisoning and envenoming where a new therapeutic principle has been proposed or a decidedly superior clinical result has been obtained material on the use of toxins as tools in studying biological processes and material on subjects related to venomanantivenom problems review articles on problems related to toxinology.

And

To encourage the exchange of ideas, sections of the journal may be devoted to Short Communications, Letters to the Editor and activities of the International Society on Toxinology. *Toxicon* strives to publish articles that are current and of broad interest and importance to the toxinology research community. Emphasis will be placed upon articles that further the understanding and knowledge of toxinology.

Types of paper

Full-Length Research Papers: Articles containing the results of original research on problems related to toxins derived from animals, plants and microorganisms.

Short Communications: Short communications differ from full manuscripts only in that the research study does not lend itself to an extended presentation. Even though brief, the Short communication should represent a complete, coherent and self contained

study. The quality of Short Communications is expected to be as good as that of full articles, and both full articles and Short communications will be refereed in an identical manner. The form is identical to that for a full article except that the report should not be divided into Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion. An abstract of not more than 75 words should be provided. The Short Communication may not be longer than five double-spaced typewritten pages (not including references, tables and figures) and should include not more than two tables of two figures or one of each.

Letters to the Editor: These may be published if judged by the Editor to be of interest to the broad field of toxinology or of special significance to a smaller group of workers in a specialized field of toxinology. They should be headed 'Letter to the Editor' which should be followed by a title for the communication. Names of authors and affiliations should be at the end of the letter.

Announcements: *Toxicon* will only accept for publication announcements of great interest to toxinologists, such as notices of appropriate meetings and symposia and activities of the International Society of Toxinology.

Reviews and mini-Reviews: Articles of interest to toxinologists which are published in journals other than *Toxicon* may be abstracted in the Reviews section of *Toxicon*. Readers who feel that a particular article or book should be abstracted in this section are encouraged to bring their opinions to the attention of one of the Review Editors. Mini-Reviews and proposals for mini-Reviews are welcome

Molecular Biology: Papers on molecular biological aspects of toxins are welcome. They can include cloning, expression, genetic and related studies. The papers must add to the understanding of the role or function of toxins. Papers providing cDNA sequences without any relevant conclusions are not acceptable. If cDNA sequences are included, authors must guarantee that the sequences will be deposited in a public gene bank before the publication of the paper in *Toxicon*.

AUTHOR INFORMATION PACK 7 Feb 2014 www.elsevier.com/locate/toxicon 6

Clinical reports: *Toxicon* will publish clinical reports on poisoning where a new therapeutic principle has been proposed or a decidedly superior clinical result has been established. Please observe the following: Clinical Reports Guidelines

Classic Toxins: The main aim of these articles is to educate and inform both the experienced scientist and new scientists entering the field of toxinology. These articles should serve as a reference guide for anyone using toxins. Please contact Dr. Ed Rowan with your suggestions for inclusion in the 'classic toxins' feature.

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Conflict of Interest

Toxicon follows the ICMJE recommendations regarding conflict of interest disclosures. All authors are required to report the following information with each submission: All third-party financial support for the work in the submitted manuscript. All financial relationships with any entities that could be viewed as relevant to the general area of the submitted manuscript. All sources of revenue with relevance to the submitted work who made payments to you, or to your institution on your behalf, in the 36 months prior to submission. Any other interactions with the sponsor of outside of the submitted

work should also be reported. Any relevant patents or copyrights (planned, pending, or issued). Any other relationships or affiliations that may be perceived by readers to have influenced, or give the appearance of potentially influencing, what you wrote in the submitted work.

As a general guideline, it is usually better to disclose a relationship than not. This information will be acknowledged at publication in a Transparency Document. Additional information on the ICMJE recommendations can be found at: <http://www.icmje.org>. The form for conflict of interest disclosure can be downloaded here, or at http://www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (if this link does not display properly in your browser, please right-click the link and select "Save Target As..." or "Save Link as..." from the popup menu.)

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service CrossCheck <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

Changes to authorship

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts:

Before the accepted manuscript is published in an online issue: Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

After the accepted manuscript is published in an online issue: Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

Copyright

This journal offers authors a choice in publishing their research: Open Access and Subscription. AUTHOR INFORMATION PACK 7 Feb 2014
www.elsevier.com/locate/toxicon 7

For Subscription articles

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright, see <http://www.elsevier.com/copyright>). An e-mail will be

sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

For Open Access articles

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (for more information see <http://www.elsevier.com/OAauthoragreement>). Permitted reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license (see <http://www.elsevier.com/openaccesslicenses>).

Retained author rights

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights. For more information on author rights for:

Subscription articles please see

<http://www.elsevier.com/journal-authors/author-rights-and-responsibilities>.

Open access articles please see <http://www.elsevier.com/OAauthoragreement>.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated. Please see <http://www.elsevier.com/funding>.

Funding Body Agreements and Policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

US National Institutes of Health (NIH) voluntary posting ("Public Access") policy:

Elsevier facilitates author response to the NIH voluntary posting request (referred to as the NIH "Public Access Policy"; see <http://www.nih.gov/about/publicaccess/index.htm>) by posting the peerreviewed author's manuscript directly to PubMed Central on request from the author, 12 months after formal publication. Upon notification from Elsevier of acceptance, we will ask you to confirm via email (by e-mailing us at NIHauthorrequest@elsevier.com) that your work has received NIH funding and that you intend to respond to the NIH policy request, along with your NIH award number to facilitate processing. Upon such confirmation, Elsevier will submit to PubMed Central on your behalf a version of your manuscript that will include peer-review comments, for posting 12 months after formal publication. This will ensure that you will have responded fully to the NIH request policy. There will be no need for you to post your manuscript directly with PubMed Central, and any such posting is prohibited.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Open Access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse
- An Open Access publication fee is payable by authors or their research funder

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our access programs (<http://www.elsevier.com/access>)

AUTHOR INFORMATION PACK 7 Feb 2014 www.elsevier.com/locate/toxicon 8

- No Open Access publication FEE All articles published Open Access will be immediately and permanently free for everyone to read and download. Permitted reuse is defined by your choice of one of the following Creative Commons user licenses:

Creative Commons Attribution (CC BY): lets others distribute and copy the article, to create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), to include in a collective work (such as an anthology), to text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike (CC BY-NC-SA): for noncommercial purposes, lets others distribute and copy the article, to create extracts, abstracts and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), to include in a collective work (such as an anthology), to text and data mine the article, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation, and license their new adaptations or creations under identical terms (CC BY-NC-SA).

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND): for noncommercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article. To provide Open Access, this journal has a publication fee which needs to be met by the authors or their research funders for each article published Open Access. Your publication choice will have no effect on the peer review process or acceptance of submitted articles.

The publication fee for this journal is **\$3,000**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/languageediting/>) or visit our customer support site (<http://support.elsevier.com>) for more information.

Submission

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at

submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail removing the need for a paper trail.

Referees

The Editors welcome submissions by the authors of the names and addresses of up to five individuals who could expertly review the paper, and who are not from the same institutions as the authors. The Editors reserve the right to use these or other reviewers.

PREPARATION

NEW SUBMISSIONS

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts your files to a single PDF file, which is used in the peer-review process. As part of the Your Paper Your Way service, you may choose to submit your manuscript as a single file to be used in the refereeing process. This can be a PDF file or a Word document, in any format or layout that can be used by referees to evaluate your manuscript. It should contain high enough quality

AUTHOR INFORMATION PACK 7 Feb 2014 www.elsevier.com/locate/toxicon 9

figures for refereeing. If you prefer to do so, you may still provide all or some of the source files at the initial submission. Please note that individual figure files larger than 10 MB must be uploaded separately.

References

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct.

Formatting requirements

There are no strict formatting requirements but all manuscripts must contain the essential elements needed to convey your manuscript, for example Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Conclusions, Artwork and Tables with Captions. If your article includes any Videos and/or other Supplementary material, this should be included in your initial submission for peer review purposes. Divide the article into clearly defined sections. Please ensure the text of your paper is double-spaced and has consecutive line numbering— this is an essential peer review requirement.

Figures and tables embedded in text

Please ensure the figures and the tables included in the single file are placed next to the relevant text in the manuscript, rather than at the bottom or the top of the file.

REVISED SUBMISSIONS

Use of word processing software

Regardless of the file format of the original submission, at revision you must provide us with an editable file of the entire article. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Experimental

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

AUTHOR INFORMATION PACK 7 Feb 2014 www.elsevier.com/locate/toxicon 10

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that phone numbers (with**

country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.

- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

A Graphical abstract is optional and should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership online. Authors must provide images that clearly represent the work described in the article. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <http://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples.

Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images also in accordance with all technical requirements: Illustration Service.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 125 characters including spaces, or, maximum 20 words per bullet point). See <http://www.elsevier.com/highlights> for examples.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

AUTHOR INFORMATION PACK 7 Feb 2014 www.elsevier.com/locate/toxicon 11

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title

or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Database linking

Elsevier encourages authors to connect articles with external databases, giving their readers one-click access to relevant databases that help to build a better understanding of the described research. Please refer to relevant database identifiers using the following format in your article: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN). See <http://www.elsevier.com/databaselinking> for more information and a full list of supported databases.

Math formulae

Present simple formulae in the line of normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many wordprocessors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Table footnotes

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Preferred fonts: Arial (or Helvetica), Times New Roman (or Times), Symbol, Courier.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Indicate per figure if it is a single, 1.5 or 2-column fitting image.
- For Word submissions only, you may still provide figures and their captions, and tables within a single file at the revision stage.
- Please note that individual figure files larger than 10 MB must be provided in separate source files.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalized, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'.

TIFF (or JPG): Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi. TIFF (or JPG): Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low.
- Supply files that are too low in resolution.
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

AUTHOR INFORMATION PACK 7 Feb 2014 www.elsevier.com/locate/toxicon 12

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

References

Citation in text Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication. *Reference links*

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

Web references As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

This journal has standard templates available in key reference management packages EndNote (<http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>) and Reference Manager (<http://refman.com/support/rmstyles.asp>). Using plug-ins to wordprocessing packages, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article and the list of references and citations to these will be formatted according to the journal style which is described below.

Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be AUTHOR INFORMATION PACK 7 Feb 2014 www.elsevier.com/locate/toxicon 13 applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;
3. *Three or more authors:* first author's name followed by 'et al.' and the year of publication. Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown'

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59.

Reference to a book: Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations: <http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php>.

Video data

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 50 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>.

Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

AudioSlides

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. More information and examples are available at <http://www.elsevier.com/audioslides>. Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

Supplementary data

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research.

Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, highresolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should

AUTHOR INFORMATION PACK 7 Feb 2014 www.elsevier.com/locate/toxicon 14
submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Submission checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

- Telephone

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

AFTER ACCEPTANCE

Use of the Digital Object Identifier

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. Example of a correctly given DOI (in URL format; here an article in the journal *Physics Letters B*):

<http://dx.doi.org/10.1016/j.physletb.2010.09.059>

When you use a DOI to create links to documents on the web, the DOIs are guaranteed never to change.

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our ProofCentral system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately - please upload all of your corrections within 48 hours. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via email (the PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and

conditions of use). For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/offprints>).

AUTHOR INFORMATION PACK 7 Feb 2014 www.elsevier.com/locate/toxicon 15

Authors requiring printed copies of multiple articles may use Elsevier WebShop's 'Create Your Own Book' service to collate multiple articles within a single cover (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/offprints/myarticlesservices/booklets>).

AUTHOR INQUIRIES

For inquiries relating to the submission of articles (including electronic submission) please visit this journal's homepage. For detailed instructions on the preparation of electronic artwork, please visit <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, will be provided by the publisher.

You can track accepted articles at <http://www.elsevier.com/trackarticle>. You can also check our Author FAQs at <http://www.elsevier.com/authorFAQ> and/or contact Customer Support via

<http://support.elsevier.com>.

© Copyright 2012 Elsevier | <http://www.elsevier.com>

NORMAS PARA SUBMISSÃO DA REVISTA CIÊNCIA RURAL

Normas para publicação

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os **artigos científicos, revisões e notas** devem ser encaminhados via eletrônica e editados em idioma Português ou Inglês. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. **O máximo de páginas será 15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras.** Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que **não poderão ultrapassar as margens e nem estar com apresentação paisagem.**

3. O artigo científico (Modelo .doc, .pdf) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências; Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

4. A revisão bibliográfica (Modelo .doc, .pdf) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

5. A nota (Modelo .doc, .pdf) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na**

submissão. Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

9. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

9.1. Citação de livro:
JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

9.2. Capítulo de livro com autoria:
GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

9.3. Capítulo de livro sem autoria:
COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.
TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

9.4. Artigo completo:
O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICHS, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) a diferentes concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

9.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

9.6. Tese,

dissertação:

COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

9.7. Boletim:

ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

9.8. Informação

verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

9.9. Documentos

eletrônicos:

MATERA, J.M. **Afeções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000.

Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: [http://www. Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm](http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm)

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

10. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

11. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

12. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.

13. Lista de verificação (Checklist .doc, .pdf).

14. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

15. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

16. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.