

**“MARCADORES CARDÍACOS EM RATOS (*Rattus norvegicus*)  
INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE POR *Toxocara canis*”.**

**SELMA DE BASTOS ZAMBELLI FREITAS**

**“MARCADORES CARDÍACOS EM RATOS (*Rattus norvegicus*)  
INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE POR *Toxocara canis*”.**

**SELMA DE BASTOS ZAMBELLI FREITAS**

636.089  
F866m

Freitas, Selma de Bastos Zambelli.  
Marcadores cardíacos em ratos (*Rattus  
norvegicus*) infectados experimentalmente por  
*Toxocara canis* / Selma de Bastos Zambelli  
Freitas. – Presidente Prudente, 2010.  
32 f.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) –  
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE:  
Presidente Prudente – SP, 2010.  
Bibliografia.

1. Toxocaríase. 2. Lesões cardíacas. 3.  
Enzimas cardíacas. I. Título

**SELMA DE BASTOS ZABELLI FREITAS**

**“MARCADORES CARDÍACOS EM RATOS (*Rattus norvegicus*) INFECTADOS  
EXPERIMENTALMENTE POR *Toxocara canis*”.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Presidente Prudente, 21 de junho de 2010.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dra. Cecília Braga Laposy  
Curso de Mestrado em Ciência Animal  
Universidade do Oeste Paulista

---

Profa. Dra. Mara Regina Stipp Balarin  
Universidade Estadual de Londrina  
Londrina-Paraná

---

Prof. Dra. Rosa Maria Barilli Nogueira  
Curso de Mestrado em Ciência Animal  
Universidade do Oeste Paulista

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho aos meus Amores*

*Meus queridos pais, Hugo Jorge (in memorian) e minha mãe Irmã, que nunca mediram esforços para que meus sonhos se tornassem realidade.*

*Meu marido, amigo e companheiro Carlos (Shola) que sempre me incentivou a caminhar ao seu lado.*

*Nossos filhos amados Rafael e Estephânia, simplesmente por serem os melhores filhos do mundo.*

*Sem eles o meu sol não teria brilho e nem calor.*

## AGRADECIMENTOS

*A professora orientadora e querida amiga, Dra. Cecília Braga Laposy, pelo seu empenho profissional, dedicação à pesquisa, e por seu imensurável conhecimento, que contribuiu de forma decisiva para que eu vencesse mais essa etapa.*

*A professora e também querida amiga, Dra. Rosa Maria Barilli Nogueira, pelas maravilhosas aulas ministradas, pela amizade e pela Paz transmitida em seu semblante nos momentos de expectativa.*

*Ao professor Dr. Rogério Giuffrida, pela sua competência e ajuda na pesquisa.*

*Aos amigos José Luiz Parizi, Gisele Nai e Marcelo Sávio do Amaral, que apesar de seus horários atribulados, não mediram esforços para ajudar, com informações preciosas.*

*Aos amigos André Louzada, Lívia Ramires e Grazielle Malaman, pela ajuda nas coletas de materiais, pela alegria e descontração compartilhados nesses bons momentos.*

*A minha querida amiga e irmã Flávia Noris Chagas Leli, por sua amizade sincera e por estar sempre ao meu lado.*

**“Se as coisas são impossíveis... Ora, isso não  
é motivo para não quere-las.  
Que tristes os caminhos se não fora a mágica  
presença das estrelas.”**

**Mário Quintana**

## RESUMO

### **Marcadores cardíacos em ratos (*Rattus norvegicus*) infectados experimentalmente por *Toxocara canis***

Com o objetivo de estudar as alterações promovidas por larvas de *Toxocara canis* sobre as enzimas cardíacas creatinoquinase (CK), creatinoquinase fração MB (CK-MB) e lactato desidrogenase (LDH) de ratos Wistar de três meses de idade, em função da carga infectante e do tempo, foram formados dois grupos com 24 animais, 12 machos e 12 fêmeas por grupo. Os animais receberam 250 (Grupo I) e 1000 (Grupo II) ovos larvados de *T. canis*, por via oral. Outro grupo, constituído por 12 animais, seis de cada sexo, serviu como controle. Nos dias sete, 15, 30, 60, 120 e 180 pós-infecção, foi realizada, em cada momento, a eutanásia de quatro animais de cada um dos grupos experimentais e dois do grupo controle. Amostras de sangue foram colhidas por punção da veia cava caudal. Os picos de atividade das enzimas avaliadas nos animais infectados com 250 ovos antecederam aqueles dos animais que receberam 1000 ovos. Pode-se concluir que quanto menor a carga infectante mais rápida é a elevação de atividade das enzimas utilizadas como marcadores cardíacos e as alterações são mais precoces em outros tecidos, quando comparadas à musculatura cardíaca.

Palavras-chave: Toxocariase, lesões cardíacas, enzimas cardíacas.



## ABSTRACT

### **Cardiac markers in rats (*Rattus norvegicus*) experimentally infected by *Toxocara canis***

With the aim of studying the changes promoted by larvae of *Toxocara canis* on the cardiac enzymes creatine kinase (CK), creatine kinase MB fraction (CK-MB) and lactate dehydrogenase (LDH) from rats three months old, according to load infective and time, two groups were formed with 24 animals, 12 males and 12 females per group. The animals received 250 (Group I) and 1000 (Group II) eggs larvae of *T. canis*, orally. Another group, consisting of 12 animals, six of each sex served as controls. On day seven, 15, 30, 60, 120 and 180 post-infection was performed in each moment, the euthanasia of four animals from each of the two experimental groups and control group. Blood samples were collected by puncturing the caudal vena cava. The peaks of enzyme activity measured in animals infected with 250 eggs preceded those of animals that received 1000 eggs. It can be concluded that the lower the infective load faster is to increase the activity of enzymes used as markers and cardiac changes are more precocious in other tissues as compared to the heart muscle.

Key-words: Toxocariasis, cardiac lesions, cardiac enzymes

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	10
BIBLIOGRAFIA.....	13
2 ARTIGO CIENTÍFICO.....	16
ANEXO.....	29

## 1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

A toxocaríase é uma infecção zoonótica vista em todo o mundo, causada pelo parasita *Toxocara canis* e menos frequentemente pelo *Toxocara cati*, que são encontrados no intestino de cães e gatos, respectivamente. Os seres humanos se infectam pela ingestão de ovos do parasito encontrados nas fezes infectadas de filhotes e fêmeas em lactação. Indivíduos de todas as idades podem ser acometidos, mas a doença é mais comum em crianças que ingerem alimentos contaminados pelas fezes do cão ou gato (DESPOMMIER, 2003).

Na maioria dos casos, a infecção é assintomática e auto-limitante. As duas formas mais comuns são: a larva *migrans* ocular e a larva *migrans* visceral, com sintomatologia geral e envolvimento de vários órgãos ou sistema como pele, pulmão, fígado e em raras ocasiões, coração e sistema nervoso central (HARALAMBIDOU et al., 2005).

Embora a migração das larvas de *T. canis* tenha que obrigatoriamente passar pelo coração, os relatos de comprometimento cardíaco pelo parasito na espécie humana são escassos. Os casos de toxocaríase envolvendo lesão cardíaca geralmente são acompanhados por eosinofilia (HERRY et al., 1997; ABE et al., 2002; HARALAMBIDOU et al., 2005; MATSUKI et al., 2007; TRABOULSI et al., 2007), que podem ser resultado da invasão da larva no miocárdio e/ou pela reação de hipersensibilidade ao parasito (HOKIBARA et al., 1998; ABE et al., 2002).

No cão, a transmissão do *Toxocara canis* depende de vários mecanismos que incluem a transferência do terceiro estágio larval do tecido do hospedeiro paratênico para o cão por relações presa-predador. *Rattus norvegicus* e outras espécies de roedores são conhecidos como possíveis hospedeiros paratênicos de *T. canis*, abrigando o terceiro estágio larval viável em seus tecidos e órgãos (CHIEFFI et al., 2009).

Há algumas evidências de alterações comportamentais dos hospedeiros paratênicos infectados pelo parasito que resultam na facilitação na transmissão presa-predador, resultando a presença de larvas no sistema nervoso central. No entanto, após alcançar o sistema nervoso, as larvas, em roedores, podem atingir outros tecidos como o da musculatura estriada (BARDÓN et al., 1994; LESCANO et al., 2004).

A identificação de animais com doença cardíaca assintomática por testes bioquímicos permite diagnosticar cardiopatias com maior acurácia e em menor tempo. Desse modo é possível, estabelecer um prognóstico e realizar a terapia precocemente (SISSON, 2002). A utilização dos marcadores cardíacos auxilia o clínico veterinário no diagnóstico de diversas cardiopatias, mas, para uma interpretação adequada dos resultados, são necessários exame físico detalhado e exames complementares, como eletrocardiograma, ecocardiografia, radiologia torácica e a mensuração da pressão arterial (YONEZAWA et al.,2010).

Os biomarcadores são indicadores de processos biológicos normais, processos patogênicos ou de intervenção farmacológica que fornecem informação considerando a exposição da doença, a extensão da lesão e o prognóstico (OYAMA; SISSON, 2004).

O diagnóstico de injúria cardíaca em humanos a partir de biomarcadores iniciou-se por volta de 1950 e a literatura relacionada a área de marcadores cardíacos é bastante extensa (LADENSON,2007). Na medicina veterinária, muitos estudos clínicos sobre a validação de testes ainda estão em andamento, e há evidências que sugerem que os benefícios potenciais destes são similares aos dos humanos (SOLTER, 2007).

A creatinaquinase (CK) é a enzima mais amplamente utilizada para determinação de doenças neuromusculares dos animais domésticos. Carlson (1994), Stockham (1995) e Cardinet (1997) concordam que este é um indicador altamente sensível e específico de lesão muscular, já que principais fontes teciduais dessa enzima são as fibras musculares esqueléticas, as cardíacas e ainda o músculo liso, predominando no tecido muscular esquelético e cardíaco.

Stockham (1995) e Kramer e Hoffmann (1997) incluem que, certa quantidade de CK também está presente nos tecidos do sistema nervoso central, porém, um dano nesses tecidos não causa aumento dessa enzima no soro, mas pode aumentar sua atividade no líquido cérebro-espinhal. Camarozano e Henriques (1996) citam a existência de 3 isoenzimas de CK em humanos: MM encontrada no músculo esquelético, BB no tecido cerebral e a forma híbrida MB no músculo cardíaco. Duncan e colaboradores (1994), Cardinet (1997) e Kramer e Hoffmann (1997) também confirmam essas três isoenzimas da CK nos animais.

A CK é uma enzima de extravazamento, informa Duncan et al., (1994), podendo haver um aumento de suas taxas no soro em casos de lesão muscular

reversível ou na necrose muscular. Esse aumento ocorre poucas horas após a lesão e atinge valores máximos em 12 horas, voltando ao normal 24 a 48 horas depois de cessar a alteração de permeabilidade muscular. Assim, altas taxas de CK sérica indicam doença muscular ativa ou de ocorrência recente, enquanto valores persistentemente altos refletem a continuidade da doença. Para Cardinet (1997), os valores normais de CK determinados em animais domésticos podem variar com atividade física, idade e sexo, entre outros.

Em humanos, a dosagem da CK-MB vem sendo utilizada como principal método para confirmação ou exclusão de infarto agudo do miocárdio (CAMARAZANO; HENRIQUES, 1996; CHRISTENSON et al., 1999), e picos de CK-MB podem prever eventos cardíacos desfavoráveis em populações de alto risco (O'NEIL et al., 2001). Lopes et al., (2005), utilizando 40 cães, determinaram valores de CK-MB que podem ser utilizados como referência, sendo 11,0 U/L o valor mínimo e 38,8U/L o máximo.

A lactato desidrogenase (LDH) catalisa a oxidação reversível do lactato para piruvato com o cofator NAD (KANEKO et al., 1997). É uma enzima presente em vários tecidos, em particular no músculo esquelético, músculo cardíaco, fígado e eritrócitos, mas também nos rins, osso e pulmões. Existem cinco isoenzimas conhecidas, que não são comumente analisadas nos laboratórios veterinários. Isoladamente a enzima não é específica para nenhum órgão. Qualquer intensidade de hemólise é prejudicial, pois o extravasamento de enzimas eritrocitárias ainda incrementa a atividade total da LDH no plasma. A LDH pode ser utilizada para avaliar cardiomiopatias diversas (isquemia, endocardite bacteriana, trombose aórtica e infarto do miocárdio). Normalmente a LDH aumenta mais tardiamente que a CK, mas também mantém os valores elevados por mais tempo (MEYER; HARVEY, 1998).

Dada a importância da zoonose, o estudo sobre lesões cardíacas por larvas *T. canis* em modelo experimental murino, com diferentes cargas infectantes e um período maior de avaliação dos animais, pode ser de grande utilidade na compreensão da biologia e da patologia da toxocaríase no ser humano.

## BIBLIOGRAFIA

ABE, K. SHIMOKAWA, H. et al. Myocarditis associated with visceral larva migrans due to *Toxocara canis*. **Internal Medicine**, v. 41, p. 706-708, 2002.

BARDÓN, R.; CUÉLLAR, C.; GUILLEÉN, J. L. Local distribution of *Toxocara canis* in BALB/c mice at nine weeks and one year post-inoculation. **Journal of Helminthology**, v. 68, p. 390-360, 1994.

CAMAROZANO, A. C. A.; HENRIQUES, L. M. G. Uma macromolécula capaz de alterar o resultado da CK-MB e induzir ao erro no diagnóstico de infarto agudo do miocárdio. **Arquivo Brasileiro Cardiologia**, v. 66, n. 3, p. 143-147, 1996.

CARDINET, G. H. Skeletal muscle function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. London: Academic Press, 1997. p. 407-440.

CARLSON, G. P. Testes de química clínica. In: SMITH, B. P. **Tratado de medicina interna de grandes animais**. São Paulo: Manole, 1994. v. 2, 1738 p.

CHIEFFI, P. P. et al. Muscular strength decrease in *Rattus norvegicus* experimentally infected by *Toxocara canis*. **Revista do Instituto Medicina Tropical de São Paulo**, v. 51, p. 73-75, 2009.

CHRISTENSON, R. H. et al. Standardization of creatine kinase-MB (CK-MB) mass assays: the use of recombinant CK-MB as a reference material. **Clinical chemistry**, v. 45, p. 1414-1423, 1999.

DESPOMMIER, D. Toxocariasis: Clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, p. 265-272, 2003.

DUNCAN, J. R.; PRASSE, K. W.; MAHAFFEY, E. A. **Veterinary laboratory medicine – clinical pathology**. 3.ed. Iowa: Iowa State University, 1994. 300 p.

HARALAMBIDOU, S. et al. Pulmonary and myocardial manifestations due to *Toxocara canis* infection. **European Journal of Internal Medicine**, v. 16, p. 601-602, 2005.

HERRY, I. Et al. Acute life-threatening toxocaral tamponade. **Chest**, v. 112, p. 1962-1963, 1997.

HOKIBARA, S. et al. Effects of monoclonal antibodies to adhesion molecules on eosinophilic myocarditis in *Toxocara canis*-infected CBA/J mice. **Clinical Experimental Immunology**, v. 114, p. 236-244, 1998.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Appendixes. In: \_\_\_\_\_. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. London: Academic Press, 1997.

KRAMER, J. W.; HOFFMANN, W. E. Clinical enzymology. In: In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. London: Academic Press, 1997. p. 303-325.

LADENSON, J. H. A personal history of markers of myocyte injury [myocardial infarction]. **Clinical Chimica Acta**, v. 381, p. 3-8, 2007.

LESCANO, S. A. Z.; QUEIROZ, M. L.; CHIEFFI, P. P. Larval recovery of *Toxocara canis* in organs and tissues of experimentally infected *Rattus norvegicus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 627-628, 2004.

LOPES, S.T.A. et al. Determinação da creatina quinase em cães. **Revista da FZVA**, v. 12, p. 116-122, 2005.

MATSUKI, Y. et al. Toxocariasis presenting with multiple effusions in the pericardial space, thoracic cavity, and Morrison's pouch. **Internal Medicine**, v. 46, p. 913-914, 2007.

MEYER, D. J.; HARVEY, D. J. **Veterinary laboratory medicine, interpretation & diagnosis**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. 373 p.

O'NEIL, B. J. et al. Can early elevations in CK-MB predict serious cardiac events? **Academic emergency medicine**, v. 8, n. 5, p. 503, 2001.

OYAMA, M. A.; SISSON, D. D. Cardiac troponin-I concentration in dogs with cardiac disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 18, p. 831-839, 2004.

SISSON, D. Biochemical markers of cardiac dysfunction. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY ASSOCIATION CONGRESS, 27., 2002, Granada, Spain. **Proceedings...** Granada: WSAVA, 2002. Disponível em: <<http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2002&PID=2531&Category=408>>. Acesso em 30 out. 2009.

SOLTER, P. F. Clinical biomarkers of cardiac injury and disease. In: ACVP/ASVCP CONCURRENT ANNUAL MEETINGS, 2007, Savannah, USA. **Proceedings...** Savannah: ACVP/ASVCP, 2007. Disponível em: <<http://www.ivis.org/proceedings/acvp/2007/solter.pdf?LA=1>>. Acesso em 19 fev. 2010.

STOCKHAM, S. L. Interpretation of equine serum biochemical profile results. In: MESSER, N. T. **The veterinary clinics of North America - equine practice.** Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1995. p. 391-414.

TRABOULSI, R.; BOUEIZ, A.; KANJ, S. S. Catastrophic aortic thrombosis due to *Toxocara* infection. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 39, p. 283-285, 2007.

YONEZAWA, L. A. et al. Marcadores cardíacos em medicina veterinária. **Ciência Rural**, v. 40, p. 222-230, 2010.



## 1 2 ARTIGO CIENTÍFICO

2

3

4 Marcadores cardíacos em ratos (*Rattus norvegicus*) infectados experimentalmente por5 *Toxocara canis*6 Cardiac markers in rats (*Rattus norvegicus*) experimentally infected by *Toxocara canis*7 Selma de Bastos Zambelli Freitas<sup>I</sup>, Cecília Braga Laposy<sup>II\*</sup>, Rosa Maria Barili Nogueira<sup>II</sup>,8 Vamilton Alvares Santarém<sup>II</sup>, Grazielle Malaman<sup>III</sup>, André Nogueira Louzada<sup>III</sup>, Lívía9 Magosso Ramires<sup>III</sup>

10

11 Resumo

12 Com o objetivo de estudar as alterações promovidas por larvas de *Toxocara canis*

13 sobre as enzimas cardíacas creatinoquinase (CK), creatinoquinase fração MB (CK-MB) e

14 lactato desidrogenase (LDH) de ratos Wistar de três meses de idade, em função da carga

15 infectante e do tempo, foram formados dois grupos com 24 animais, 12 machos e 12 fêmeas

16 por grupo. Os animais receberam 250 (Grupo I) e 1000 (Grupo II) ovos larvados de *T. canis*,

17 por via oral. Outro grupo, constituído por 12 animais, seis de cada sexo, serviu como controle.

18 Nos dias sete, 15, 30, 60, 120 e 180 pós-infecção, foi realizada, em cada momento, a eutanásia

19 de quatro animais cada um dos grupos experimentais e dois do grupo controle. Amostras de

20 sangue foram colhidas por punção da veia cava caudal. Os picos de atividade das enzimas

21 avaliadas nos animais infectados com 250 ovos antecederam aqueles dos animais que

22 receberam 1000 ovos. Pode-se concluir que quanto menor a carga infectante mais rápida é a

---

<sup>I</sup> Discente do Mestrado em Ciência Animal – Universidade do Oeste Paulista

<sup>II</sup> Professores dos Cursos de Mestrado em Ciência Animal e Graduação em Medicina Veterinária – Universidade do Oeste Paulista (Unoeste). \*Endereço para correspondência: Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário Unoeste. Rod. Raposo Tavares km 572, Bairro Limoeiro.19075-175. Presidente Prudente, SP. Tel.: 55183229-2066. e-mail:claposy@unoeste.br.

<sup>III</sup> Discentes do curso de Medicina Veterinária – Universidade do Oeste Paulista (Unoeste)

23 elevação de atividade das enzimas utilizadas como marcadores cardíacos e as alterações são  
24 mais precoces em outros tecidos, quando comparadas à musculatura cardíaca.

25 Palavras-chave: Toxocaríase, lesões cardíacas, enzimas cardíacas.

26 Abstract

27         With the aim of studying the changes promoted by larvae of *Toxocara canis* on the  
28 cardiac enzymes creatine kinase (CK), creatine kinase MB fraction (CK-MB) and lactate  
29 dehydrogenase (LDH) from rats three months old, according to load infective and time, two  
30 groups were formed with 24 animals, 12 males and 12 females per group. The animals  
31 received 250 (Group I) and 1000 (Group II) eggs larvae of *T. canis*, orally. Another group,  
32 consisting of 12 animals, six of each sex served as controls. On days seven, 15, 30, 60, 120  
33 and 180 post-infection, euthanasia was performed in four experimental groups and two  
34 control group. Blood samples were collected by cava caudal vein puncture. The peaks of  
35 enzyme activity measured in animals infected with 250 eggs preceded those of animals that  
36 received 1000 eggs. It can be concluded that the lower the infective load faster is to increase  
37 the activity of enzymes used as markers and cardiac changes are more precocious in other  
38 tissues as compared to the heart muscle.

39 Key-words: Toxocaríase, cardiac lesions, cardiac enzymes

40

41 Introdução com Revisão de Literatura

42         A toxocaríase é uma infecção zoonótica, de distribuição mundial, causada pelo  
43 nematódeo *Toxocara canis* e menos frequentemente por *Toxocara cati*, que são encontrados  
44 no intestino de cães e gatos, respectivamente (DESPOMMIER, 2003).

45         Os seres humanos se infectam principalmente pela ingestão acidental de ovos  
46 presentes no solo. No intestino delgado, as larvas presentes nos ovos eclodem, atravessam a

47 parede intestinal e migram, através da circulação de retorno, para diversos órgãos após  
48 passarem pelo fígado e coração (MAGNAVAL et al., 2001).

49 Indivíduos de todas as idades podem ser acometidos, mas a doença é mais comum em  
50 crianças (ACHA & SZYFRES, 1986). Na maioria dos casos, a infecção é assintomática, uma  
51 vez que o homem se comporta como hospedeiro paratênico (MAGNAVAL et al., 2001). As  
52 duas formas mais comuns de toxocaríase humana são: a larva *migrans* ocular  
53 (SCHANTZ,1989), envolvendo o sistema oftálmico, e a larva *migrans* visceral (ZINKHAM,  
54 1978), com sintomatologia geral e envolvimento de vários órgãos como pulmão, fígado e  
55 sistema nervoso central.

56 Embora a migração das larvas de *T. canis* tenha que obrigatoriamente passar pelo  
57 coração, os relatos de comprometimento cardíaco pelo parasito na espécie humana são  
58 escassos. Os casos envolvendo lesão cardíaca, que podem ser resultado da invasão da larva no  
59 miocárdio e/ou pela reação de hipersensibilidade ao parasito (HOKIBARA et al., 1998; ABE  
60 et al., 2002), geralmente são acompanhados por eosinofilia (HERRY et al., 1997; ABE et al.,  
61 2002; HARALAMBIDOU et al., 2005; MATSUKI et al, 2007; TRABOULSI et al., 2007).

62 Apesar das enzimas creatinoquinase (CK), sua fração MB (CK-MB) e lactato  
63 desidrogenase (LDH) serem importantes marcadores cardíacos em seres humanos, os relatos  
64 de toxocaríase com comprometimento cardíaco não referem a determinação de nenhuma  
65 delas.

66 A CK é a enzima mais amplamente utilizada para determinação de doenças  
67 neuromusculares em animais domésticos (CARDINET, 1997). Ela é um indicador altamente  
68 sensível e específico de lesão muscular, já que os principais tecidos-fonte dessa enzima são os  
69 tecidos musculares esquelético e cardíaco (CARLSON, 1994; STOCKHAM,1995;  
70 CARDINET,1997). A CK é uma enzima de extravazamento celular, podendo haver um  
71 aumento de suas taxas no soro em casos de lesão muscular reversível ou em necrose muscular

72 (DUNCAN et al., 1994). Esse aumento ocorre poucas horas após a lesão e atinge valores  
73 máximos em 12 horas, voltando ao normal 24 a 48 horas depois de cessar a alteração de  
74 permeabilidade muscular. Assim, altas taxas de CK sérica indicam doença muscular ativa ou  
75 de ocorrência recente, enquanto valores persistentemente altos refletem a continuidade da  
76 doença (CARDINET, 1997).

77 Elevações nas concentrações de enzimas séricas utilizadas como marcadores de lesões  
78 cardíacas, tais como CK-MB foram observadas em diversas espécies animais, tanto em  
79 processos de doença cardíaca, como em situações como contusão cardíaca, miocardite por  
80 *Trypanosoma cruzi*, toxicidade por doxorubicina, entre outras (GOODWIN, 2002;  
81 SCHOBER, 2005; SOUZA et al., 2008). Em humanos, a dosagem da CK-MB vem sendo  
82 utilizada como principal método para confirmação ou exclusão de infarto agudo do miocárdio,  
83 e picos de CK-MB pode prever eventos cardíacos desfavoráveis em populações de alto risco  
84 (CAMAROZANO & HENRIQUES, 1996; CHRISTENSON et al., 1999; O'NEIL et al,  
85 2001).

86 A LDH é uma enzima presente em vários tecidos, em particular no músculo  
87 esquelético, músculo cardíaco, fígado e eritrócitos, mas também nos rins, osso e pulmões.  
88 Isoladamente a enzima não é específica para nenhum órgão (YONEZAWA et al., 2010).  
89 Qualquer intensidade de hemólise é prejudicial, pois o extravasamento de enzimas  
90 eritrocitárias ainda incrementa a atividade total da LDH no plasma. Segundo MEYER &  
91 HARVEY(1998), a LDH pode ser utilizada para avaliar cardiomiopatias diversas (isquemia,  
92 endocardite bacteriana, trombose aórtica e infarto do miocárdio).

93 Vários estudos têm sido realizados com murinos, que são considerados como o  
94 principal modelo experimental da toxocaríase humana. Entretanto, os estudos envolvendo as  
95 lesões cardíacas nesses animais, inclusive de enzimas que podem indicar a injúria precoce do  
96 coração são escassos na literatura.

97 Dada a importância da zoonose, o estudo teve como objetivo avaliar as alterações  
98 promovidas por larvas de *T. canis* sobre as enzimas cardíacas em função da carga infectante e  
99 do tempo.

100

## 101 Material e Métodos

102 No estudo, foram utilizados 60 ratos (*Rattus norvegicus*, linhagem Wistar), 30 machos  
103 e 30 fêmeas, com idade de três meses, fornecidos pelo Biotério Central da Instituição de  
104 origem e que permaneceram durante todo o experimento em ambiente controlado de  
105 temperatura e umidade. Os animais foram distribuídos em dois grupos, constituídos, cada um  
106 deles, por 24 animais (12 machos e 12 fêmeas). No Grupo I e Grupo II, os ratos foram  
107 infectados, por gavagem oral, respectivamente, com 250 e 1000 ovos larvados de *T. canis*  
108 diluídos em um mililitro de solução fosfato tamponada estéril (PBS). Seis ratos machos e seis  
109 fêmeas, que receberam volume semelhante apenas de PBS e pela mesma via, serviram como  
110 controle.

111 Fêmeas adultas de *T. canis* foram obtidas de filhotes infectados naturalmente,  
112 mantidos no Canil da instituição, e tratados com fembendazol (20mg/kg). Para obtenção dos  
113 ovos do parasito, seguiu-se o procedimento descrito por PECINALI et al. (2005), com  
114 algumas modificações. As fêmeas adultas (L<sub>5</sub>) do nematódeo foram lavadas com solução  
115 fisiológica, para retirada de material fecal, e histerectomizadas, com ajuda de  
116 estereomicroscópio, em sua porção uterina. Os ovos foram colocados em solução de  
117 formalina 2%, por no mínimo 28 dias, à temperatura ambiente para embrionamento e  
118 desenvolvimento larval. Após este período, o material foi lavado em solução fisiológica, por  
119 centrifugação a 2.000 r.p.m., por três minutos, e alíquotas de 1000 ovos foram contados em  
120 câmara de Neubauer, para a infecção experimental.

121 Antes do experimento, amostras de fezes foram colhidas diretamente das caixas dos  
122 animais e processadas pelas técnicas de Willis-Molay e Hoffman et al. (HOFFMANN, 1987).  
123 Foram incluídos no estudo, os animais cujo resultado da amostra de fezes foi negativo.

124 Após infecção, considerada como dia zero, quatro animais dos grupos I e II (dois  
125 machos e duas fêmeas) e dois do grupo controle (um macho e uma fêmea) foram submetidos  
126 à eutanásia, após prévia anestesia realizada com a administração de 30mg/kg da associação de  
127 tiletamina/zolazepam (Zoletil 5%, Virbac<sup>®</sup>), diluída em solução salina nos dias sete, 15, 30,  
128 60, 120 e 180 (KANASHIRO & CASSU, 2008).

129 A eutanásia dos animais foi realizada por exsanguinação, com secção da veia cava  
130 caudal, com a finalidade de evitar a contaminação do sangue e lesão cardíaca (PAIVA et al.,  
131 2005). Cerca de 3,0 mL de sangue total foi colhido e separado por centrifugação a 3000 rpm  
132 durante 10 minutos para obtenção do soro. A avaliação bioquímica foi efetuada por processo  
133 cinético em analisados semi-automático, utilizando-se kits comerciais das enzimas CK, CK-  
134 MB e LDH, segundo KANEKO et al., 1997.

135 Para estudar a correlação entre as médias das atividades séricas das enzimas CK, CK-  
136 MB e LDH, utilizou-se a regressão linear simples. O mesmo método foi aplicado para estudar  
137 a correlação entre o tempo em dias decorrido entre a inoculação e a dosagem sérica das  
138 enzimas estudadas. Foi testada ainda a tendência de correlação entre as atividades séricas das  
139 enzimas pesquisadas e tempo após a inoculação em dias, determinando-se os respectivos  
140 coeficientes de correlação linear de Pearson (PAGANO & GAUVREAU, 2004). Para todas as  
141 comparações adotou-se o nível de significância de 5%.

142

#### 143 Resultados e Discussão

144 Observou-se que os picos de concentração das enzimas avaliadas nos animais  
145 infectados com 250 ovos antecederam aqueles dos animais que receberam 1000 ovos. No

146 grupo I, esses picos corresponderam a 15 dias para CK e LDH e 30 dias para CK-MB. No  
147 grupo II, a LDH foi a primeira enzima a ter seu pico máximo registrado, aos 30 dias, seguido  
148 da CK-MB, aos 60 dias, e CK, aos 120 dias pós-infecção (Figura 1).

149 Em relação a CK (Figura 1-A), a atividade sérica nos animais infectados foi superior  
150 àquela observada nos ratos do grupo controle, em todos os momentos avaliados. No Grupo I,  
151 houve, após o pico, uma queda significativa da atividade com o transcorrer do tempo ( $p=$   
152  $0,0287$ ;  $r= -0,8582$ ). No Grupo II, a atividade não apresentou diferença significativa, com  
153 oscilação durante todo o experimento. As atividades de CK-MB ( $p=0,7223$ ;  $r= -0,1873$ ) e a  
154 LDH ( $p=0,4736$ ;  $r= -0,3675$ ) não apresentaram correlação com a variação dos momentos.

155 A elevação da atividade da CK se dá poucas horas após a lesão tecidual e atinge  
156 valores máximos em 12 horas voltando à normalidade 24 a 48 horas após cessar a alteração de  
157 permeabilidade muscular (CARDINET, 1997). Segundo o autor, os casos de persistência da  
158 atividade enzimática podem ser sugestivos de continuidade da injúria muscular. No presente  
159 estudo, a primeira avaliação dos animais foi realizada após sete dias da infecção. No processo  
160 de migração, as larvas de *T. canis* podem alcançar o coração a partir do quarto dia pós-  
161 infecção (O'NEIL, 2001). É possível que a elevação desta enzima tenha coincido com a  
162 passagem de larvas, embora os picos tenham ocorrido posteriormente.

163 Diversos estudos têm apontado a musculatura esquelética como um dos principais  
164 locais de migração de larvas de *T. canis* em murinos. Entretanto, a presença de larvas em  
165 músculo cardíaco tem sido pouco estudada. Dessa forma, a CK poderia tanto indicar lesão  
166 cardíaca quanto de musculatura esquelética (LESCANO et al., 2004; CHO et al., 2007).

167 Normalmente a LDH aumenta mais tardiamente que a CK (MEYER & HARVEY,  
168 1998). Em nosso estudo, entretanto, o pico da LDH coincidiu com o da CK, nos animais  
169 infectados com 250 ovos. Nos animais infectados com 1000 ovos, o pico antecedeu ao da CK.  
170 Entretanto, a partir dos picos, houve queda na atividade da enzima. Segundo MEYER &

171 HARVEY (1998), a LDH mantém os valores elevados por mais tempo, o que não foi  
172 observado em nosso estudo, onde após o pico máximo houve diminuição da atividade da  
173 enzima nos dois grupos avaliados (Figura 1-B). KOHTARO e colaboradores (2002)  
174 verificaram que pacientes com alta titulação para *T.canis*, apresentaram miocardite e tiveram  
175 seus valores séricos elevados de LDH (1069,0U/L) que só retornaram aos valores  
176 considerados normais após tratamento. O mesmo foi verificado com ENKO et al., (2009) ao  
177 atender um paciente com miocardite eosinofílica fulminante. Os valores de LDH observados  
178 em seu experimento chegaram a 2126,0 U/L.

179 Os picos de CK-MB podem indicar previamente injúrias cardíacas (O'NEIL et al.,  
180 2001). Entretanto, os picos de atividade foram observados pelo menos após 30 dias de  
181 infecção, não podendo ser associada aos casos de injúria aguda (Figura 1-C).

182 Observou-se que as enzimas atingiram mais rapidamente picos de atividade nos  
183 animais que receberam menor carga infectante. Postula-se que a migração em animais que são  
184 infectados com menor número de larvas é mais intensa, enquanto que nas altas infecções as  
185 larvas são retidas em órgão como o fígado.

186 Relatos de miocardite fulminante por larvas de *Toxocara* spp. em seres humanos têm  
187 sido descritos (ENKO et al., 2009). No presente estudo, observou-se que as atividades das  
188 enzimas consideradas como marcadores de injúria cardíaca se elevaram de forma mais lenta.  
189 Isso pode indicar um processo de migração lenta das larvas e ativação de processo de  
190 hipersensibilidade tardia em vez de lesão causada propriamente pela larva no miocárdio.

191

192 Conclusão

193 Pode-se concluir que quanto menor a carga infectante mais rápida é a elevação de  
194 atividade das enzimas utilizadas como marcadores cardíacos e as alterações são mais precoces  
195 em outros tecidos, quando comparadas à musculatura cardíaca.



196 Comissão de Ética

197 O presente experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição  
198 de origem, protocolada sob o número 12/OL /09 e está de acordo com a legislação vigente e  
199 os Princípios Éticos publicados pela Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de  
200 Laboratório (SBCAL).

201

202 Referências

203 ABE, K. et al. Myocarditis associated with visceral larva migrans due to *Toxocara canis*.  
204 **Internal Medicine**, v. 41, p. 706-708, 2002.

205 ACHA, P.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles al hombre y a los**  
206 **animales**, 2. ed. Organización Mundial de la Salud: Washington, 1986.

207 CAMAROZANO, A.C.A.; HENRIQUES, L.M.G. Uma macromolécula capaz de alterar o  
208 resultado da CK-MB e induzir ao erro no diagnóstico de infarto agudo do miocárdio. **Arquivo**  
209 **Brasileiro Cardiologia**, v.66, n.3, p.143-147, 1996.

210 CARDINET, G.H. Skeletal muscle function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS,  
211 M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed. London: Academic Press, 1997. p  
212 407-440.

213 CARLSON, G.P. Testes de química clínica. In: SMITH, B.P. **Tratado de medicina interna**  
214 **de grandes animais**. São Paulo: Manole, 1994. v. 2, 1738p.

215 CHO, S. et al. Migration behaviour and pathogenesis of five ascarid nematode species in the  
216 Mongolian gerbil *Meriones unguiculatus*. **Journal of Helminthology**, v. 81, p. 43-47, 2007.

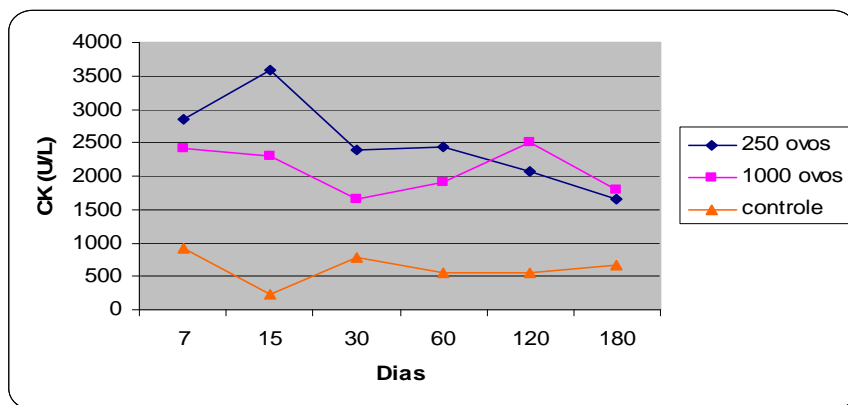
217 CHRISTENSON, R.H. et al. Standardization of creatine kinase-MB (CK-MB) mass assays:  
218 the use of recombinant CK-MB as a reference material. **Clinical chemistry**, v.45, p.1414-  
219 1423, 1999.

- 220 DESPOMMIER, D. Toxocariasis: Clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and  
221 molecular aspects. **Clinical Microbioly Reviews**, v. 16, p. 265–272, 2003.
- 222 DUNCAN, J.R. et al. **Veterinary laboratory medicine – clinical pathology**. 3 ed. Iowa:  
223 Iowa State University, 1994. 300 p.
- 224 ENKO, K.; et al. Fulminant eosinophilic myocarditis associated with visceral larva migrans  
225 caused by *Toxocara canis* infection. **Circulation Journal**, v.73, p.1344-1348,2009.
- 226 GOODWIN, J.K. Eletrocardiografia. In:\_\_\_ TILLEY, L.P.; GOODWIN, J.K. **Manual de**  
227 **cardiologia para cães e gatos**.3 ed. São Paulo:Rocca, 2002, p.39-65.
- 228 HARALAMBIDOU,S. et al. Pulmonary and myocardial manifestations due to *Toxocara canis*  
229 infection. **European Journal of Internal Medicine**, v. 16, p. 601-602, 2005.
- 230 HERRY, I. et al. Acute life-threatening toxocaral tamponade. **Chest**, v. 112, p. 1962-1963,  
231 1997.
- 232 HOFFMANN, R.P. **Diagnóstico de parasitismo veterinário**. Porto Alegre: Sulina, 1987,  
233 155p.
- 234 HOKIBARA, S. et al. Effects of monoclonal antibodies to adhesion molecules on eosinophilic  
235 myocarditis in *Toxocara canis*-infected CBA/J mice. **Clinical Experimental Immunology**, v.  
236 114, p. 236-244, 1998.
- 237 KANASHIRO, G.P.; CASSÚ, R.N. Anestesia de animais selvagens e de laboratório. In:  
238 ANDRADE, S.F. (Ed.) **Manual de terapêutica Veterinária**, 3.ed. Roca: São Paulo, 2008.  
239 p.727-745.
- 240 KANEKO, J.J. et al. Appendixes. In: \_\_\_ **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed.  
241 London: Academic Press, 1997. Apêndice IX, 303-325.
- 242 KOHTARO,A. et al. Myocarditis associated with visceral larva migrans due to *Toxocara*  
243 *canis*. **Internal Medicine**, v.41, p.706-708, 2002.

- 244 LESCANO, S.A.Z. et al. Larval recovery of *Toxocara canis* in organs and tissues of  
245 experimentally infected *Rattus norvegicus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.99,  
246 p.627-628,2004.
- 247 MAGNAVAL, J. et al. Highlights of human toxocariasis. **Korean Journal of Parasitology**,  
248 v. 39, p. 1-11, 2001.
- 249 MATSUKI, Y. et al. Toxocariasis presenting with multiple effusions in the pericardial space,  
250 thoracic cavity, and Morrison's pouch. **Internal Medicine**, v. 46, p. 913-914, 2007.
- 251 MEYER, D.J. & HARVEY, D.J. **Veterinary laboratory medicine, interpretation &**  
252 **diagnosis**. Philadelphia :W. B. Saunders, 1998. 373p.
- 253 O'NEIL, B.J.et al. Can early elevations in CK-MB predict seriouscardiac events. **Academic**  
254 **emergency medicine**, v.8, n.5, p.503, 2001.
- 255 PAGANO, M., GAUVREAU, K. **Princípios de bioestatística**. 2 ed. São Paulo: Pioneira  
256 Thomson Learneing, 2004.
- 257 PAIVA, F.P et al. **Curso de Manipulação de Animais de Laboratório**. Salvador: Fiocruz-  
258 Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz. 28 p. 2005. Disponível em:  
259 [http://www.cpqgm.fiocruz.br/arquivos/bioterio/bioterio\\_apostilha.pdf](http://www.cpqgm.fiocruz.br/arquivos/bioterio/bioterio_apostilha.pdf). Acesso em 14 de abril  
260 de 2009.
- 261 PECINALI, N.R. et al. Influence of murine *Toxocara canis* infection on plasma and  
262 bronchoalveolar lavage fluid eosinophil numbers and its correlation with cytokine levels.  
263 **Veterinary Parasitology**, v. 134, p. 121-130, 2005.
- 264 SCHANTZ, P. *Toxocara larva migrans* now. **American Journal of Tropical Medicine and**  
265 **Hygiene**, v. 41, p. 21-34, 1989.
- 266 SHOBER, K.E. Biochemical markers of cardiovascular disease. In.:\_\_\_ ETTINGER, S.J.;  
267 FELDMAN, E.C. Textbook of Veterinary Internal Medicine, 6 th ed., St Louis; Elsevier,  
268 2005, p.245-248.

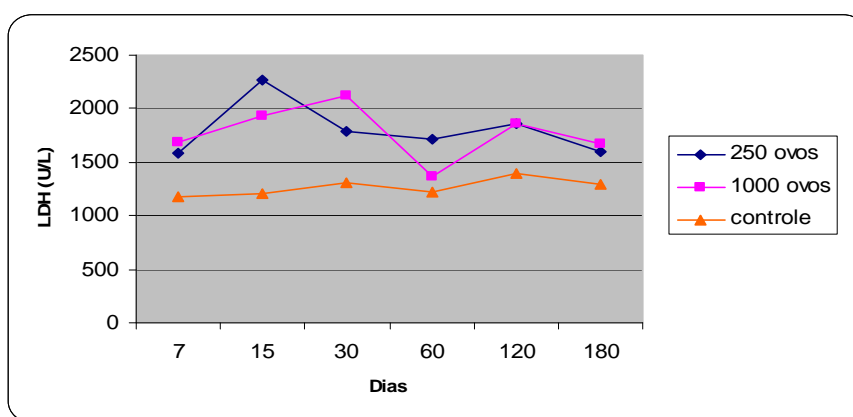
- 269 SOUZA, A.I. et al. Aspectos clínico-laboratoriais da infecção natural por *Trypanosoma cruzi*  
270 em cães de Mato Grosso do Sul. **Ciência Rural**, v.38, 0.1351-1356, 2008.
- 271 STOCKHAM, S.L. Interpretation of equine serum biochemical profile results. In: MESSER,  
272 N.T. **The veterinary clinics of North America - equine practice**. Philadelphia: W. B.  
273 Saunders Company, 1995. p.391-414.
- 274 TRABOULSI, R et al. Catastrophic aortic thrombosis due to *Toxocara* infection.  
275 **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 39, p. 283-285, 2007.
- 276 YONEZAWA, L.A.; et al. Marcadores cardíacos em medicina veterinária. **Ciência Rural**,  
277 v.40, p.222-230, 2010.
- 278 ZINKHAM, W.H. A review and reassessment indicating two forms of clinical expression:  
279 visceral and ocular. **American Journal of Diseases in Children**, v. 132, p. 627-628, 1978.
- 280
- 281
- 282
- 283
- 284
- 285
- 286
- 287
- 288
- 289
- 290
- 291
- 292
- 293

294



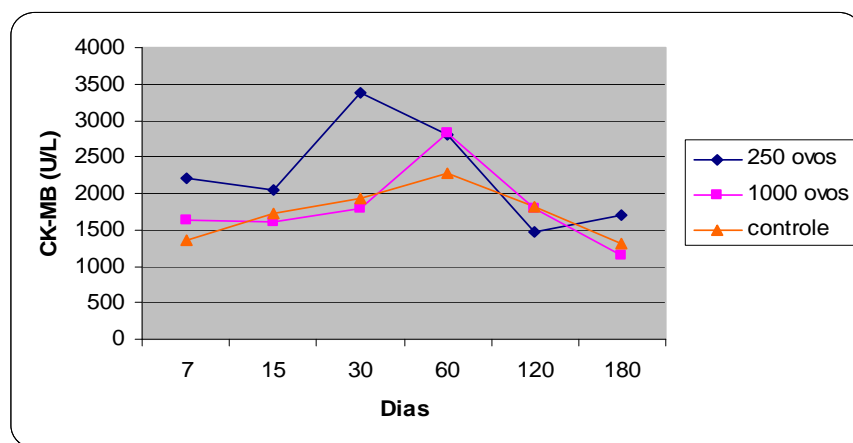
A

295



B

296



C

297 Figura 1. Valores médios da atividade sérica de creatinoquinase (CK), lactato desidrogenase  
 298 (LDH) e creatinoquinase fração MB (CK-MB), respectivamente A, B e C, em ratos Wistar  
 299 infectados experimentalmente, por via oral, com 250 e 1000 ovos de *Toxocara canis*, dos  
 300 sete aos 180 dias pós-infecção.

301

302

303

304

305 **3 ANEXO**

306



307

308

309

**Normas para publicação**

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

313 **2. Os artigos científicos, revisões e notas** devem ser encaminhados via [eletrônica](#) editados  
314 em idioma Português ou Inglês, todas as linhas deverão ser numeradas e paginados no lado  
315 inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm, com no  
316 máximo, 25 linhas em espaço duplo, as margens superior, inferior, esquerda e direita em  
317 2,5cm, fonte Times New Roman, tamanho 12. **O máximo de páginas será 15 para artigos**  
318 **científicos, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e**  
319 **ilustrações.** Cada figura e ilustração deverá ser enviado em arquivos separados e constituirá  
320 uma página (cada tabela também constituirá uma página). **Tabelas, gráficos e figuras não**  
321 **poderão estar com apresentação paisagem.**

322 **3. O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês);  
323 Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura;  
324 Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências. Agradecimento(s) ou  
325 Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal, quando for  
326 necessário o uso deve aparecer antes das referências. **Antes das referências deverá**  
327 **também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de**  
328 **Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de**  
329 **acordo com normas éticas.** (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).

330 **4. A revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês);  
331 Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e  
332 Referências. Agradecimento(s) ou Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e  
333 Informe Verbal, devem aparecer antes das referências. **Antes das referências deverá**  
334 **também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de**  
335 **Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de**  
336 **acordo com normas éticas.** (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).

- 337 **5. A nota deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-  
 338 chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia;  
 339 resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências.  
 340 Agradecimento(s) ou Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe  
 341 Verbal, caso existam devem aparecer antes das referências. **Antes das referências deverá**  
 342 **também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de**  
 343 **Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de**  
 344 **acordo com normas éticas.** (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).
- 345 **6.** Não serão fornecidas separatas. Os artigos estão disponíveis no formato pdf no endereço  
 346 eletrônico da revista [www.scielo.br/cr](http://www.scielo.br/cr).
- 347 **7.** Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês  
 348 português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve  
 349 ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no  
 350 título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses  
 351 devem aparecer nas palavras-chave e resumo e demais seções quando necessários.
- 352 **8.** As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do  
 353 ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados  
 354 por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita  
 355 (MOULTON, 1978).
- 356 **9.** As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas  
 357 próprias da revista.
- 358 **9.1.** Citação de livro:  
 359 JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.
- 360 TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e**  
 361 **outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.
- 362 **9.2.** Capítulo de livro com autoria:  
 363 GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The**  
 364 **thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.
- 365 **9.3.** Capítulo de livro sem autoria:  
 366 COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: \_\_\_\_\_. **Sampling techniques**. 3.ed. New  
 367 York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.  
 368 TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: \_\_\_\_\_. **Técnicas cirúrgicas em animais**  
 369 **de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.
- 370 **9.4.** Artigo completo:  
 371 O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI  
 372 (Digital Object Identifiers) conforme exemplos abaixo:
- 373 MEWIS, I.; ULRICH, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of  
 374 the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor*

- 375 (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia*  
 376 *interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam  
 377 (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)  
 378 [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.
- 379 PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus oryzae* (L.),  
 380 *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) a diferentes  
 381 concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência Rural**, Santa  
 382 Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, nov. 2008. Disponível em:  
 383 <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso)  
 384 [84782008000800002&lng=pt&nrm=iso](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-  
 385 84782008000800002.
- 386 **9.5. Resumos:**  
 387 RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol,  
 388 Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS.  
 389 **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.  
 390
- 391 **9.6. Tese, dissertação:**  
 392 COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos**  
 393 **(Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese  
 394 (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em  
 395 Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.  
 396
- 397 **9.7. Boletim:**  
 398 ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p.  
 399 (Boletim Técnico, 20).  
 400
- 401 **9.8. Informação verbal:**  
 402 Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre  
 403 parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do  
 404 texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-  
 405 mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.  
 406
- 407 **9.9. Documentos eletrônicos:**  
 408 MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do**  
 409 **tratamento cirúrgico**. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.
- 410 GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL  
 411 VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA,  
 412 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em:  
 413 <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>
- 414 UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em  
 415 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>
- 416 ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and  
 417 conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34,



418 n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Acessado em  
419 23 mar. 2000. Online. Disponível em: [http://www. Medscape.com/server-](http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm)  
420 [java/MedlineSearchForm](http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm)

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

426 **10.** Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem  
427 em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadros. As figuras devem ser  
428 enviadas à parte, cada uma sendo considerada uma página. Os desenhos figuras e gráficos  
429 (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade  
430 máxima com pelo menos 800 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra  
431 tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.  
432 Também devem apresentar a seguinte formatação que se encontra nesse [exemplo](#).

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

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

438 **13.** Lista de verificação (Checklist [.doc](#), [.pdf](#)).

439 **14.** Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

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

442

443 Ciência Rura Universidade Federal de Santa Maria-Centro de Ciências Rurais Prédio 42, Sala 3104 97105-900 –  
444 Santa Maria, RS, BrasilE-mail:[cienciarural@mail.ufsm.br](mailto:cienciarural@mail.ufsm.br) Fone/Fax: (55) 32208698 (55) 32208698 Fax: (55)  
445 32208695.

446

447