

**TOXINA BOTULÍNICA TIPO A INTRA-ARTICULAR COMO ADJUVANTE NO
CONTROLE DA DOR EM CÃES COM DISPLASIA COXOFEMORAL**

GABRIEL MONTORO NICÁCIO

**TOXINA BOTULÍNICA TIPO A INTRA-ARTICULAR COMO ADJUVANTE NO
CONTROLE DA DOR EM CÃES COM DISPLASIA COXOFEMORAL**

GABRIEL MONTORO NICÁCIO

Dissertação de Mestrado apresentado a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal – Área de concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientador:
Profa. Dra. Renata Navarro Cassu

636.089 796 Nicácio, Gabriel Montoro.

N582t

Toxina botulínica tipo A intra-articular como adjuvante no controle da dor em cães com displasia coxofemoral / Gabriel Montoro Nicácio. – Presidente Prudente, 2016.

53 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2016.

Bibliografia.

Orientador: Renata Navarro Cassu.

1. Analgesia. 2. Osteoartrose. 3. Toxina botulínica. 4. Cães. I. Título.

GABRIEL MONTORO NICÁCIO

**TOXINA BOTULÍNICA TIPO A INTRA-ARTICULAR COMO ADJUVANTE NO
CONTROLE DA DOR EM CÃES COM DISPLASIA COXOFEMORAL**

Dissertação de Mestrado apresentado a
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-
Graduação, Universidade do Oeste
Paulista, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em Ciência
Animal - Área de Concentração:
Fisiopatologia Animal

Orientadora: Profa. Dra. Renata Navarro
Cassu

Presidente Prudente, 25 de novembro de
2015

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Renata Navarro Cassu
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

Prof. Dr. Stelio Pacca Loureiro Luna
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp
Botucatu-SP

Profa. Dra. Cecilia Braga Laposy
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

AGRADECIMENTOS

À Deus pela existência.

Aos meus pais, Ana e Marco, meus primeiros e melhores professores, os mais generosos, que nunca mediram esforços para estarem ao meu lado e sempre me proporcionam além do necessário, e sempre estão presentes em cada etapa da minha vida, não seria um parágrafo o suficiente para ilustrar meu infinito amor e agradecimento.

À minha esposa, Isabela, minha parceira, família por opção, que me acompanha nas horas boas e nas difíceis, sempre tornando tudo mais fácil.

À toda minha família e amigos, pelo apoio e incentivo.

À minha professora e orientadora Renata, que participou desde a minha graduação, residência e pós graduação, me recebeu de braços abertos para minha orientação no programa de mestrado em ciência animal da Unoeste, adequando sua linha de pesquisa com minha maior área de atuação. Agradeço pela amizade e por todo o apoio, confiança e orientação.

Aos residentes da clínica cirúrgica de pequenos animais, Rafael e Yara, e da anestesiologia, Ricardo e Reinaldo, sou muito grato a vocês.

À professora Rejane, do setor de imagem, que participou diretamente na realização do trabalho.

Aos meus professores e colegas, pela convivência diária e troca de experiência, contribuem extremamente para meu crescimento.

Aos funcionários do hospital veterinário da instituição, em especial, Gustavo, Marcelo e Reginaldo que me deram um grande auxílio na realização do trabalho.

Às professoras Rosa e Cecília, por terem aceitado e contribuído no exame de qualificação, e aos professores Stelio e Cecília, por terem aceitado a participar da banca de defesa do mestrado.

À Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp).

Só tenho a agradecer a todos que, neste período, participaram direta ou indiretamente do trabalho, passaram pelo meu caminho e deixaram um pouco de si, e serviram para meu crescimento pessoal e profissional. É difícil transformar sentimentos em palavras, mas serei eternamente grato a todos vocês, que foram imprescindíveis para conclusão deste trabalho.

“Existem muitas hipóteses em ciência que estão erradas. Isso é perfeitamente aceitável, eles são a abertura para achar as que estão certas”. (Carl Sagan)

RESUMO

Toxina Botulínica Tipo A Intra-Articular como Adjuvante no Controle da Dor em Cães com Displasia Coxofemoral

Objetivou-se avaliar a administração intra-articular (IA) da toxina botulínica tipo A (BoNT/A) como adjuvante do controle da dor crônica em cães com displasia coxofemoral (DCF). Em delineamento duplo-cego, 14 cães foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: BoNT (n=7): administração IA de 25U (0,5 mL) de toxina botulínica; Controle (n=7): administração IA de 0,5 mL de solução salina. Para todos os animais foi prescrito tratamento convencional com carprofeno (15 dias) e sulfato de condroitina (90 dias). Os sinais clínicos da DCF foram avaliados, antes do tratamento (basal), 15, 30, 60 e 90 dias após a injeção IA, por sistema de escore pelo pesquisador e mediante questionários respondidos pelos proprietários dos cães, empregando-se o Breve Inventário de Dor Canina (BIDC) e o Indicador de Dor Crônica de Helsinque (IDCH). Intervenção analgésica foi permitida se o somatório dos escores do BIDC e/ou IDCH excedesse 50%. Os resultados foram analisados pelo teste t não-pareado, ANOVA, teste de Tukey ($P < 0,05$). Não houve diferença entre os grupos nos escores avaliados pelo médico veterinário ou pelos proprietários (BIDC e IDCH). Na comparação ao longo tempo, escores inferiores foram observados em ambos os grupos durante 90 dias em relação ao basal na avaliação do pesquisador e no IDCH. O mesmo resultado foi obtido na avaliação pelo BIDC para o grupo controle, enquanto no grupo BoNT a diferença só foi observada nos primeiros 60 dias após a injeção IA. Intervenção analgésica não foi necessária durante o período de avaliação. Ambos os tratamentos reduziram os sinais clínicos associados à DCF, porém a administração adjuvante de toxina botulínica não potencializou os resultados.

Palavras-chave: Analgesia. Osteoartrose. Toxina botulínica. Canina

ABSTRACT

Intra-Articular Botulinum Toxin Type for Pain Management in Dogs with Hip Displasia

This study aims to determine the efficacy of intra-articular (IA) administration of botulinum toxin type A (BoNT/A) in dogs with signs of chronic pain associated with hip dysplasia. In a double-blind design fourteen dogs were randomized and distributed into two groups: BoNT (n=7): IA injection with 25U (0,5 mL) of botulium toxin; Control (n=7): IA injection with saline solution (0.5 mL). All dogs received conventional treatment with oral and carprofen (2.2 mg/kg, every 12 h, 15 days), and chondroitin sulfate (750-1000 mg, every 12 h, 90 days). The clinical signs of HD were evaluated prior to treatment (baseline), 15, 30, 60, and 90 days after the IA injection by the veterinary using a score system and by the owners with a questionnaire about their dog's condition using the Canine Brief Pain Inventory (CBPI) and Helsinki Chronic Pain Index (HCPI). The data were analyzed using test unpaired-t, ANOVA, Tukey test ($P < 0.05$). There was no difference between groups in the scores measured by the veterinary and by the owners (CBPI and HCPI). In comparison over time lower scores were observed in both groups during 90 days from baseline in the researcher evaluation and in the HCPI. The same result was obtained by the CBPI evaluation to the control group whereas for the BoNT group the difference was only observed in the first 60 days after IA injection. Analgesic intervention was not necessary during the evaluation period. Both treatments reduced the clinical signs associated with hip dysplasia, however adjunctive administration of BoNT didn't potentialize the results.

Keywords: Analgesia. Osteoarthritis. Botulinum toxin. Canine

LISTA DE SIGLAS

AINES	– Antiinflamatórios não esteróides
BID	– Duas vezes ao dia
BIDC	– Breve inventário de dor canina
BoNT/A	– Toxina botulínica do tipo A
CEUA	– Comissão de uso de animais em experimentação
COX-2	– Ciclooxygenase 2
DAD	– Doença articular degenerativa
DCF	– Displasia coxofemoral
FCI	– Fundação cinológica internacional
GD	– Gravidade da dor
GL	– Glicosamina
HV	– Hospital veterinário
IA	– Intra-articular
ID	– Interferência da dor
IDCH	– Índice de dor crônica de Helsinque
IM	– Intra-muscular
mg/kg	– Miligrama por quilograma
mL	– Mililitros
OA	– Osteoartrose
OFA	– Orthopedic foundation for animals
P	– Nível de significância
RX	– Raio x
SC	– Sulfato de condroitina
SRD	– Sem raça definida
TCLE	– Termo de consentimento livre e esclarecido
VO	– Via oral

SUMÁRIO

1. ARTIGO CIENTÍFICO.....	09
ANEXO – NORMAS DE PUBLICAÇÃO.....	39

1. ARTIGO CIENTÍFICO

1 **Artigo Original**

2

3

4 **Toxina botulínica tipo A intra-articular como adjuvante no controle da dor em cães com**
5 **displasia coxofemoral**

6

7

8 G.M. Nicácio^a, R.N. Cassu^{a,*}, S.P. Luna^b, P. Cavaleti^a, R.B. Brinholi^c

9

10 ^a *Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, Faculdade de Ciências*
11 *Agrárias, Universidade do Oeste Paulista (Unoeste), Presidente Prudente, SP, 19067-175,*
12 *Brasil*

13 ^b *Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária*
14 *e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Botucatu, SP, 18618-970, Brasil*

15 ^c *Departamento de Diagnóstico por Imagem, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade do*
16 *Oeste Paulista (Unoeste), Presidente Prudente, SP, 19067-175, Brasil*

17

18

19 *Autor para correspondência. Tel.: +55 18 3229 2077

20 E-mail: navarro@unoeste.br (R.N. Cassu)

21

22 **Resumo**

23 Objetivou-se avaliar a administração intra-articular (IA) da toxina botulínica como
24 adjuvante do controle da dor crônica em cães com displasia coxofemoral (DCF). Em
25 delineamento duplo-cego, 14 cães foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: BoNT
26 (n=7): administração IA de 25U (0,5 mL) de toxina botulínica; Controle (n=7): administração
27 IA de 0,5 mL de solução salina. Para todos os animais foi prescrito tratamento convencional
28 com carprofeno (15 dias) e sulfato de condroitina (90 dias). Os sinais clínicos da DCF foram
29 avaliados, antes do tratamento (basal), 15, 30, 60 e 90 dias após a injeção IA, por sistema de
30 escore pelo pesquisador e mediante questionários respondidos pelos proprietários dos cães,
31 empregando-se o Breve Inventário de Dor Canina (BIDC) e o Indicador de Dor Crônica de
32 Helsinque (IDCH). Intervenção analgésica foi permitida se o somatório dos escores do BIDC
33 e/ou IDCH excedesse 50%. Os resultados foram analisados pelo teste t não-pareado,
34 ANOVA, teste de Tukey ($P < 0,05$). Não houve diferença entre os grupos nos escores
35 avaliados pelo médico veterinário ou pelos proprietários (BIDC e IDCH). Na comparação ao
36 longo do tempo, escores inferiores foram observados em ambos os grupos durante 90 dias em
37 relação ao basal na avaliação do pesquisador e no IDCH. O mesmo resultado foi obtido na
38 avaliação pelo BIDC para o grupo controle, enquanto no grupo BoNT a diferença só foi
39 observada nos primeiros 60 dias após a injeção IA. Intervenção analgésica não foi necessária
40 durante o período de avaliação. Ambos os tratamentos reduziram os sinais clínicos associados
41 à DCF, porém a administração adjuvante de toxina botulínica não potencializou os resultados.

42

43 *Palavras-chave:* Analgesia; Canina; Osteoartrose; Toxina botulínica.

44 **Introdução**

45 A displasia coxofemoral (DCF) é uma doença genética de alta prevalência, debilitante,
46 que causa desconforto e diminuição da vida útil em cães (Johnston et al., 2008). É a condição
47 ortopédica não-traumática mais comum em cães, que desenvolvem uma frouxidão articular,
48 geralmente bilateral, resultando em osteoartrose (OA) secundária (Gail et al., 2012; Minto et
49 al., 2013), que é caracterizada por lesões da cartilagem articular, remodelação óssea com
50 presença de osteófitos, inflamação e dor com graus de desconforto variáveis (Johnston et al.,
51 2008).

52 Dentre várias modalidades de tratamento disponíveis, o conservador, visa
53 principalmente o alívio da dor e melhora funcional da articulação acometida, e comumente
54 emprega o uso dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINES), como o carprofeno (Liesegang
55 et al., 2007; Edamura et al., 2012). No entanto, seu uso por períodos prolongados está
56 associado a efeitos adversos, sobretudo gastrointestinal e renal, em função da inibição da
57 síntese de prostaglandinas (Mathews, 1996; Luna et al., 2007).

58 Ademais, a utilização de condroprotetores tem sido uma opção terapêutica altamente
59 empregada no tratamento da OA, cujos efeitos foram relatados em estudos laboratoriais
60 (Bauerova et al., 2011; Permuy et al., 2015) e clínicos (Hochberg, 2010; Wildi et al., 2011).
61 Dentre os condroprotetores, os precursores da matriz cartilaginosa como sulfato de
62 condroitina (SC), glucosamina (GL) são comumente empregados no tratamento clínico da OA
63 (Salazar et al., 2009; Martel-Pelletier et al., 2015; Permuy et al., 2015).

64 Estudo prévio desenvolvido em cães com sinais clínicos e radiográficos de OA no
65 ombro e no quadril revelou que o tratamento por via oral com a associação SC+GL foi capaz
66 de reduzir os escores de dor apenas aos 70 dias após o início do tratamento (McCarthy et al.,
67 2007). Em contrapartida, estudos clínicos desenvolvidos no homem não constataram melhora

68 nas condições clínicas ou na evolução da doença articular em pacientes com OA no joelho
69 tratados com SC+GL ou placebo (Fransen et al., 2015; Yang et al., 2015).

70 Dessa forma, alguns pesquisadores têm sugerido a administração intra-articular de
71 fármacos com propriedades anti-inflamatórias e analgésicas, visando o alcance de altas
72 concentrações do medicamento no local da lesão, com a vantagem de reduzir o requerimento
73 dos AINES sistêmicos e conseqüentemente seus efeitos adversos (Bot et al., 2008).

74 Diversos estudos clínicos têm relatado resultados promissores para o tratamento da
75 dor crônica decorrente de osteoartrose, com o uso IA da toxina botulínica (BoNT) em seres
76 humanos (Mahowald et al., 2006; Chou et al., 2010; Singh et al. 2010; Chen et al., 2011). No
77 entanto, até a data vigente, apenas dois estudos foram publicados sobre a administração da
78 BoNT em cães em situações clínicas de osteoartrose (Hadley et al., 2010; Heikkilä et al.,
79 2014). Paralelamente, não foi encontrado na literatura atual nenhum estudo com foco na
80 avaliação do tratamento IA com BoNT/A em cães portadores de DCF.

81 O atual estudo tem como objetivo avaliar o efeito da administração IA da BoNT/A
82 como adjuvante no controle da dor crônica em cães com DCF. A hipótese é que o uso
83 adjuvante da BoNT possa resultar em efeito analgésico superior, em relação ao tratamento
84 placebo.

85

86 **Material e métodos**

87 *Animais*

88 O protocolo do estudo foi aprovado pela Comissão de Uso de Animais em
89 Experimentação (CEUA número 1611), e consentimento do proprietário do animal através da
90 assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Foram avaliados 14 cães,

91 adultos, portadores de DCF bilateral, provenientes da rotina do Hospital Veterinário (HV) da
92 Universidade do Oeste Paulista. Foram incluídos apenas animais com sinais de dor crônica
93 (com sinais de dor por um período de pelo menos três meses) na articulação coxofemoral, e
94 que não estivessem fazendo uso de qualquer medicamento analgésico, ou condroprotetores por,
95 no mínimo, quatro semanas. Foram excluídos animais com alterações em outras articulações
96 além da coxofemoral, descartando afecções em membros anteriores, alterações na coluna
97 vertebral, presença de déficits neurológicos, gestantes, histórico de gastrite recorrente ou
98 úlceras gástricas, portadores de doenças renais e/ou hepáticas e doenças sistêmicas graves.

99

100 *Exame clínico e avaliação do grau de desconforto, claudicação e mobilidade*

101 Todos os animais foram avaliados mediante exame físico, com ênfase em exame
102 ortopédico e neurológico completo, e exames laboratoriais (hemograma, dosagem sérica de
103 uréia, creatinina, enzimas alanino e aspartato aminotransferase e fosfatase alcalina), antes do
104 início do tratamento e mensalmente até o término do mesmo.

105 A dor à palpação foi avaliada através de sistema de escore, onde: (0) Sem sinais de dor
106 a palpação ou da articulação afetada; (1) Sinais moderados de dor à palpação da articulação
107 afetada, o cão vira a cabeça em reconhecimento; (2) Sinais de dor moderada à palpação da
108 articulação afetada, cão puxa o membro em reação de defesa; (3) Sinais de dor severa à
109 palpação, o cão vocaliza ou se torna agressivo; (4) O cão não permite à palpação (Hielm-
110 Björkman et al., 2003). O grau de claudicação foi avaliado pelos seguintes escores: (0)
111 Normal, não claudica; (1) Claudicação leve, não é tão difícil se mover; (2) Claudicação clara,
112 não se move livremente; (3) Claudicação evidente; (4) Claudicação total, evita sustentar o
113 peso no membro acometido (Hielm-Björkman et al., 2009). A habilidade em pular em uma
114 mesa foi avaliada pelos escores: (0) Pula normalmente; (1) Pula com leve cuidado; (2) Pula

115 com um pouco de dificuldade; (3) Pula ou sobe com grande dificuldade; (4) Nem tenta devido
116 à dificuldade/dor (Hielm-Björkman et al., 2003). A habilidade em subir escadas foi avaliada
117 pelos escores (0) Sobe e desce as escadas normalmente; (1) Levemente cuidadoso, utiliza
118 ambas as patas sucessivamente; (2) Algumas vezes utiliza ambas as patas ao mesmo tempo,
119 não se move evidentemente de maneira livre; (3) Sobe a escada como coelho durante todo o
120 tempo, sobe a escada com grande dificuldade; (4) Não irá nem tentar devido à dificuldade/dor
121 (Hielm-Björkman et al., 2003).

122 Os animais foram filmados nos dias das avaliações em visão frontal, de trás e de lado,
123 ao passo e trote, subindo e descendo escadas com a finalidade de se avaliar o grau de
124 claudicação para fins de registro e avaliação pelo veterinário. Para análise estatística foi
125 considerado o somatório dos escores (total = 16).

126

127 *Exame Radiográfico*

128 Para o adequado posicionamento radiográfico, os cães estavam em jejum alimentar de
129 12 horas e hídrico de duas horas e receberam como medicação pré-anestésica a associação de
130 acepromazina (0,05 mg/kg) e morfina (0,5 mg/kg) pela via intramuscular, seguindo-se com a
131 administração da anestesia geral intravenosa, com o propofol efeito dose-dependente quando
132 necessário.

133 Avaliações radiográficas seguiram os padrões estabelecidos pela *Orthopedic*
134 *Foundation for Animals* (OFA), e o grau de DCF foi classificado de acordo com o padrão
135 estabelecido pela Federação Cinológica Internacional (FCI) para avaliação da articulação
136 coxofemoral (Anexo 1).

137

138

139 *Tratamento*

140 Após a confirmação da DCF e avaliação do estado físico do paciente (grau de
141 desconforto, claudicação e mobilidade), em delineamento duplo cego, os cães foram
142 aleatoriamente distribuídos em dois tratamentos: BoNT (n=7): administração intra-articular de
143 25U de BoNT/A (diluída em solução fisiológica para um volume final de 0,5mL) em cada
144 uma das articulações. Controle (n=7): administração IA de 0,5mL de solução salina em cada
145 uma das articulações além da prescrição do tratamento convencional com carprofeno
146 (2,2mg/kg, VO, a cada 12 horas, durante 15 dias) e sulfato de condroitina (1 comprimido de
147 1000mg para cada 10 Kg de peso por dia, durante 3 meses).

148 Após tricotomia e antissepsia, o acesso articular foi guiado mediante ultrassonografia,
149 com os animais sob anestesia geral inalatória. A artrocentese foi realizada por acesso lateral e
150 confirmada pela aspiração do líquido sinovial (Hadley et al., 2010). Para o procedimento
151 anestésico, os animais foram mantidos em jejum sólido e hídrico de 12 e 3 horas,
152 respectivamente. Todos os cães foram tranquilizados com maleato de acepromazina 0,2%
153 (0,03mg/kg, IM) em associação à morfina (0,5mg/kg, IM), ambas na mesma seringa. Vinte
154 minutos após, foi realizada a cateterização da veia cefálica, procedendo-se a indução
155 anestésica com propofol, efeito dose-dependente. Ato contínuo, foi realizada a intubação
156 endotraqueal, mantendo-se a anestesia inalatória com isofluorano, em circuito circular
157 valvular semi-fechado do aparelho de anestesia, com fluxo de oxigênio (100%) de 1L/min.
158 Todos os cães foram mantidos em fluidoterapia, com Ringer Lactato, administrado na
159 velocidade de 5mL/kg/h, mediante bomba de infusão peristáltica.

160 Vinte e quatro horas após a injeção IA, foi feito contato via telefone com o
161 proprietário para informações a respeito do comportamento do cão nesse período, sendo
162 questionada a presença de irritação na pele e desconforto do animal (como: lambar ou morder

163 o local da injeção, aumento no grau de claudicação, maior dificuldade para levantar ou deitar,
164 ocorrência de vocalização).

165 O grau de desconforto, claudicação e mobilidade, conforme Hielm-Björkman et al.
166 (2009), foi avaliado por um ortopedista veterinário experiente, que desconhecia o tratamento
167 realizado no animal, no primeiro dia do atendimento (basal), 2, 4, 8 e 12 semanas após injeção
168 IA. O RX foi feito antes do tratamento, 12 e 24 semanas após a injeção IA, cuja avaliação foi
169 realizada pelo mesmo radiologista.

170

171 *Avaliação do Cão Pelo Proprietário*

172 Além das avaliações periódicas realizadas pelo médico veterinário, os cães foram
173 avaliados pelos proprietários em casa, mediante dois questionários descritivos: Breve
174 Inventário de Dor Canina incluindo os escores totais e os referentes à gravidade (GD) e a
175 interferência da dor (ID) (BIDC - Anexo 2) e o Indicador de Dor Crônica de Helsinque
176 (IDCH – Anexo 3). Essas mensurações foram realizadas antes do tratamento (basal), 2, 4, 8 e
177 12 semanas após o tratamento IA. Durante o período de avaliação (12 semanas), a
178 administração oral de carprofeno (2,2mg/kg, VO, BID) foi permitida em casos de desconforto
179 do animal. A terapia analgésica sistêmica foi permitida em casos do somatório dos escores
180 avaliados pelo proprietário excederem 50% do valor total avaliado pelo BIDC e/ou IDCH. Em
181 situações de alterações no sistema digestório, como hiporexia, anorexia e/ou episódios de
182 vômito, foi permitida administração oral concomitante do protetor de mucosa gástrica,
183 omeprazol (0,17mg/kg, a cada 24 horas).

184

185

186 *Efeitos adversos*

187 Foi avaliada a ocorrência de efeitos adversos como: dor e presença de hematomas no
188 local da injeção, ocorrência de artrite séptica, vômitos e diarreia.

189

190 *Análise Estatística*

191

192 O tamanho amostral foi estimado em um número mínimo de sete animais por grupo,
193 para um poder de teste de 80% e nível alfa de 5%, em identificar diferenças de, pelo menos,
194 45% entre os grupos.

195 Os dados foram submetidos aos testes de normalidade Shapiro-Wilk e Kolmogorov–
196 Smirnov para identificar a sua distribuição. Para as variáveis, peso, idade e sexo o teste *t* não-
197 pareado foi empregado para comparação entre os grupos. O somatório dos escores avaliados
198 pelo médico veterinário e pelos proprietários (BIDC e IDCH) foi avaliado mediante análise de
199 variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação de diferenças entre grupos e ao longo
200 do tempo dentro de um mesmo grupo. O índice de melhora conferido pelos tratamentos foi
201 avaliado pelo teste Mann-Whitney. O nível de significância utilizado em todos os testes foi de
202 5%. Foi utilizado o programa InStat Graphpad 5,1 para a análise estatística.

203

204 **Resultados**

205 Foram selecionados para o estudo 17 animais portadores de DCF. Em um animal, o
206 proprietário não totalizou a avaliação, portanto foi excluído do estudo. Dois animais vieram a
207 óbito no decorrer da pesquisa, por motivos não inerentes à utilização dos fármacos utilizados.

208 As raças dos cães que participaram do estudo foram: Border Collie (2 animais), SRD (3
209 animais), Pastor Alemão (1 animal), Rottweiler (1 animal), Lhasa Apso (2 animais), Labrador
210 (3 animais), Yorkshire (1 animal), Boxer (1 animal).

211 Não houve diferença entre os grupos em relação ao peso (BoNT: 22±11 kg; Controle:
212 21±22,5 kg), idade (BoNT: 6,5±3,5 anos ; Controle: 4,2±2,3 anos), sexo (BoNT: 4 fêmeas e 3
213 machos; Controle: 3 fêmeas e 4 machos). Com exceção de um animal do grupo controle que
214 foi diagnosticado com DCF unilateral, todos os outros animais apresentavam DCF bilateral.

215 Já com relação à gravidade da DCF, o grau E foi diagnosticado em 4/7 e 1/7 dos cães
216 e o grau D em 3/7 e 6/7 dos cães dos grupos BoNT e Controle, respectivamente.

217 Não houve diferença significativa entre os grupos nos escores avaliados pelo médico
218 veterinário (Figura 1) ou pelos proprietários (GD-BIDC, ID-BIDC, escores totais BIDC e
219 IDCH) (Figura 2a, b e c). Na comparação ao longo tempo, escores inferiores foram
220 observados em ambos os grupos durante 90 dias em relação ao basal na avaliação do médico
221 veterinário ($P < 0,0001$) e no IDCH ($P = 0,0006$: BoNT; $P = 0,0001$: Controle) (Figura 3). O
222 mesmo resultado foi obtido na avaliação pelo BIDC para o grupo controle ($P < 0,0001$),
223 enquanto no grupo BoNT a diferença só foi observada nos primeiros 60 dias ($P = 0,0128$)
224 após a injeção IA. Intervenção analgésica não foi necessária durante o período de avaliação.
225 Ambos os tratamentos reduziram os sinais clínicos associados à DCF, porém a administração
226 adjuvante de toxina botulínica não potencializou os resultados.

227 Com base no critério adotado para considerar diferenças relevantes entre os grupos e
228 cálculo do poder do teste, o resultado esperado do tratamento era de uma redução de pelo
229 menos 45% nos valores médios provenientes das avaliações feitas através dos questionários
230 respondidos pelos proprietários. Dessa forma, foi constatada melhora clínica em 14,28% (1/7)

231 dos animais do grupo Controle e 28,57% (2/7) dos animais do grupo BoNT pela avaliação
232 pelo BDC, sem diferença entre os grupos ($P > 0.005$).

233 Com relação à impressão geral do paciente ao término dos tratamentos, 42% dos
234 proprietários avaliaram a qualidade de vida como boa e 14,2% como excelente nos cães do
235 grupo BoNT, enquanto no grupo controle a maioria dos proprietários (71%) avaliou a
236 qualidade de vida como boa.

237 Com relação aos efeitos adversos, cinco animais (quatro animais do grupo BoNT e um
238 do grupo Controle) demonstraram sinais de dor nas primeiras 24-48 horas após a injeção IA.
239 Nenhuma outra reação sistêmica foi observada.

240

241 **Discussão**

242 A hipótese do presente estudo não foi confirmada, de modo que não foi possível a
243 detecção de efeito analgésico superior com o uso adjuvante da BoNT por via IA, quando
244 comparado ao tratamento placebo para cães com DCF.

245 A etiologia da dor crônica articular é complexa, envolvendo mecanismos de
246 sensibilização periférica e central. A sensibilização periférica é desencadeada pela lesão e/ou
247 inflamação articular, que atua reduzindo o limiar de excitabilidade dos nociceptores, além de
248 favorecer a liberação de neurotransmissores como bradicinina, prostaglandinas E2 e I2,
249 serotonina e leucotrienos. Esses neuromediadores primários estimulam a liberação de
250 neuropeptídeos, como o peptídeo geneticamente relacionado à calcitonina (PRGC) e a
251 substância P no local da lesão. Tais peptídeos estimulam as células inflamatórias a secretarem
252 um espectro completo de mediadores químicos inflamatórios, que envolvem as terminações
253 nervosas livres dos nociceptores, resultando no aumento da sensibilidade dessas fibras

254 (Schaible et al., 2006). O estímulo inflamatório persistente e prolongado resulta na
255 sensibilização central, que está relacionada à hiperexcitabilidade dos neurônios da medula
256 espinhal e de outras estruturas do sistema nervoso central (Kitagawa et al., 2005). No entanto,
257 em casos de DAD, além do processo inflamatório, o acúmulo de fatores estressantes sobre a
258 articulação (ex: excesso de peso, instabilidade articular, excesso de exercícios) favorece a
259 destruição da cartilagem, desencadeando alterações de remodelação na superfície articular,
260 com formação de osteófitos e prejuízo na capacidade de adequação biomecânica óssea (Daubs
261 et al., 2006). Paralelamente, a liberação de citocinas pró-inflamatórias contribue para a
262 redução funcional da cartilagem e lesão progressiva articular (Yim et al., 2007). Dessa forma,
263 a conduta terapêutica proposta no atual estudo seria capaz de inibir os diferentes mecanismos
264 envolvidos na dor articular. A administração oral de AINES possibilita a redução da
265 sensibilização periférica, através da inibição da liberação de prostaglandinas, resultando no
266 alívio da dor e da inflamação, enquanto os condroprotetores atuam inibindo a redução da
267 reabsorção óssea, além de determinarem aumento nos níveis articulares de colágeno e
268 proteoglicanas, conferindo melhor equilíbrio na relação anabólica/catabólica dos condrócitos
269 (Tat et al., 2007; Monfort et al., 2008). Paralelamente, existem evidências de que a BoNT seja
270 capaz de inibir a liberação de vários neurotransmissores que participam das vias ascendentes
271 nociceptivas, como a norepinefrina, a substância P, o glutamato e o PRGC (Ashton and Dolly,
272 1988; Durham et al., 2004). Dessa forma, sugere-se que a administração IA de BoNT
273 favoreça a inibição dos estímulos nociceptivos ascendentes que percorrem pelo corno dorsal
274 da medula espinhal, culminando diretamente com a inibição da sensibilização periférica e
275 indiretamente com a inibição da sensibilização central, em função da redução da liberação de
276 neurotransmissores nos sítios periféricos (Sanchez-Prietp et al., 1987; Ashton & Dolly, 1988;
277 Durham et al., 2004).

278 Dessa forma, no atual estudo era esperado que a associação dos três tratamentos
279 (AINE, condroprotetor e BoNT) resultasse em efeito sinérgico, refletindo na redução dos
280 sinais clínicos da DCF e melhor qualidade de vida aos cães. Contudo, os índices totais
281 avaliados pelos proprietários revelaram respostas similares na melhora clínica e na qualidade
282 de vida nos animais tratados com BoNT ou placebo, sugerindo que a administração IA de
283 BoNT não incrementou os efeitos analgésicos do TCC. Entretanto, estudos clínicos
284 desenvolvidos em seres humanos (Singh et al. 2010; Chen et al., 2011) têm relatado redução
285 nos escores de dor e melhora na função articular com o uso de BoNT IA. A divergência entre
286 os resultados pode estar associada a alguns fatores inerentes ao delineamento experimental ou
287 até mesmo às particularidades das diferentes espécies. O primeiro fator que pode ter
288 contribuído para a ausência de detecção de sucesso no tratamento está relacionado ao uso
289 adjuvante da BoNT. Os estudos que revelaram diferenças significativas entre os grupos
290 tratados com BoNT ou placebo em casos de OA, fizeram o uso IA isolado da BoNT. No
291 presente estudo, o uso associado de medicamentos com potencial analgésico pode ter
292 mascarado os possíveis efeitos analgésicos da BoNT. Além disso, a dose administrada de
293 BoNT (25 U) pode ter sido insuficiente para obtenção de efeito analgésico satisfatório. Essa
294 dose foi embasada em estudo prévio desenvolvido em cães portadores de osteoartrose (Hadley
295 et al., 2010). Entretanto, o referido estudo foi conduzido em apenas cinco animais, com sinais
296 clínicos de dor articular envolvendo cotovelo e quadril, além de não ser um estudo placebo-
297 controlado. Em estudo similar, Heikkilä et al. (2014) comparam o uso de 30 U IA de BoNT
298 com tratamento placebo em cães com OA de quadril, joelho e cotovelo e não detectaram
299 diferenças significativas nos escores de dor ou na necessidade de resgates analgésicos durante
300 12 semanas de avaliação.

301 Em seres humanos, diferentes doses de BoNT têm sido administradas por via IA,
302 sendo descritas doses que variam de 25 a 150 U por articulação (Singh et al. 2010). Dessa

303 forma, é possível que a dose empregada no atual estudo possa ter sido insuficiente para
304 obtenção do máximo potencial analgésico, pois há evidências de um possível efeito dose
305 dependente na atividade antinociceptiva da BoNT (Lin et al., 2007). Entretanto, até a data
306 vigente ainda não há um consenso na literatura em relação à dose clínica ideal para obtenção
307 de efeito analgésico em cães.

308 Paralelamente, os tipos de *Clostridium botulinum* A, B, E e F causam o botulismo
309 humano, enquanto o canino apenas foi reportado com o tipo C. É possível que a espécie
310 canina seja menos susceptível aos efeitos da neurotoxina tipo A e, conseqüentemente, aos
311 seus efeitos de uma forma generalizada, inclusive ao analgésico (Hadley et al., 2010), fator
312 que também poderia culminar com diferenças na eficiência clínica do tratamento da dor em
313 cães quando comparado aos seres humanos.

314 No atual estudo, o TCC prescrito foi embasado na terapia comumente empregada para
315 redução dos sinais clínicos da DCF em cães, pela maioria dos clínicos veterinários. O anti-
316 inflamatório escolhido foi o carprofeno, em função de ser um dos AINES mais estudados em
317 cães com OA (Lipscomb et al., 2002; Pollmeier et al., 2006; Mansa et al., 2007; Edamura et
318 al., 2012), além do fato de diversos estudos clínicos terem confirmado a segurança desse
319 medicamento por períodos superiores a 15 dias de tratamento (Mansa et al., 2007; Luna et al.,
320 2007).

321 De forma geral, a avaliação da dor em animais consiste num difícil desafio, em função
322 da impossibilidade de expressão verbal, o que torna a mensuração desse parâmetro
323 extremamente subjetiva por parte dos avaliadores. Muitos estudos têm sido desenvolvidos
324 com o intuito de aprimorar as escalas empregadas na avaliação da dor crônica, envolvendo
325 não somente a avaliação pelo pesquisador (Hielm-Björkman et al., 2003; Hielm-Björkman et
326 al., 2009), mas também o emprego de questionários multifatoriais direcionados para os

327 proprietários dos animais, considerando alterações de comportamento, capacidade de
328 locomoção, sinais de dor e qualidade de vida (Brown et al., 2008; Hielm-Björkman et al.,
329 2009, Brown et al., 2013). No atual estudo, o delineamento experimental foi duplo-cego,
330 visando minimizar qualquer resultado tendencioso por parte do pesquisador ou dos
331 proprietários dos animais. Adicionalmente, a avaliação clínica dos cães foi conduzida por um
332 veterinário ortopedista, experiente na avaliação de animais com DCF, que já havia participado
333 previamente de outros estudos envolvendo cães com OA. Os questionários empregados no
334 atual estudo foram validados para avaliação de dor crônica em cães com OA (Brown et al.,
335 2008; Hielm-Björkman et al., 2009). O IDCH é questionário minucioso que consta de 11
336 perguntas referentes ao estado geral do cão na sua vida cotidiana, envolvendo questões
337 comportamentais, atividade geral e capacidade de locomoção. No atual estudo, muitos dos
338 proprietários demonstraram algum grau de dificuldade para o preenchimento desse
339 questionário, o que pode ter interferido no resultado final da avaliação. Cerca de 50% dos
340 proprietários dos cães, apresentavam baixos níveis de escolaridade e de esclarecimento,
341 fatores que podem ter dificultado a interpretação das perguntas. Além disso, apesar das
342 orientações fornecidas no início do tratamento, bem como do esclarecimento inerente à
343 importância da minuciosa avaliação do cão na sua vida cotidiana, alguns dos proprietários não
344 demonstraram comprometimento satisfatório para contribuição na pesquisa.

345 Este estudo apresenta algumas limitações. Dentre elas, podemos destacar o número
346 restrito de animais avaliados. É possível que um número maior de cães revelasse resultados
347 mais consistentes no que diz respeito à redução dos sinais clínicos e da qualidade de vida dos
348 animais estudados. No entanto, muitos dos cães encaminhados para participarem do estudo
349 não foram selecionados em função de apresentarem outras lesões, além da DCF. Cerca de
350 40% do número total de animais selecionados para o estudo, apresentavam alterações de
351 coluna vertebral, fator que excluiu a participação desses cães na pesquisa. Além disso, alguns

352 dos proprietários se recusaram a participar do estudo pela necessidade da utilização de
353 anestesia geral para o acesso da articulação coxofemoral. Muitos dos cães apresentavam idade
354 avançada, o que favoreceu o receio dos proprietários perante o procedimento. Outro fator
355 limitante do estudo é a grande heterogeneidade da população avaliada. Apesar de não ter sido
356 constatada diferença significativa nos dados demográficos, houve uma variação individual
357 expressiva no que diz respeito ao peso corpóreo, idade e raças avaliadas. Inicialmente, a
358 expectativa era de que o peso corpóreo fosse muito próximo, devido à maior incidência da
359 doença nas raças de grande porte. Porém ao contrário do esperado, as raças foram diversas.
360 Além disso, não houve uma distribuição simétrica entre os grupos com relação à gravidade da
361 doença. No grupo BoNT, mais de 50% dos animais foram diagnosticados com grau E de
362 displasia, enquanto que no grupo Controle esse índice foi de 14%. Paralelamente,
363 independente do grau da DCF, a intensidade de dor e o tempo de evolução dos sinais clínicos
364 variou entre os cães dentro de um mesmo grupo. No grupo BoNT, dois dos animais (28,5%)
365 avaliados apresentavam sinais clínicos bem mais expressivos de DCF, com muita dificuldade
366 de locomoção, sendo graduados com escores bem acima da média dos demais, tanto pelo
367 veterinário como pelos proprietários, fator que pode ter refletido de forma negativa nos
368 resultados finais do estudo. No entanto, essas diferenças são inerentes ao estudo clínico, e
369 fazem parte daquelas variáveis que não podem ser totalmente controladas e que de fato
370 revelam a realidade da rotina clínica.

371

372 **Conclusão**

373 Ambos os tratamentos reduziram os sinais clínicos associados à DCF, porém a
374 administração adjuvante de toxina botulínica não conferiu resultados mais expressivos em
375 relação ao tratamento placebo.

376

377 **Conflitos de Interesse**

378 Nenhum

379

380 **Agradecimentos**

381 À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo suporte financeiro

382 (Processo: 2013/1847-5)

383

384 **Apêndice A: Material Suplementar**

385

386 Classificação dos graus da Displasia Coxofemoral pela FCI

387

A	<ul style="list-style-type: none">• Sem sinais de Displasia Coxofemoral• A cabeça femoral e o acetábulo são congruentes. O espaço articular é estreito. O ângulo de Norberg é em torno de 105°
B	<ul style="list-style-type: none">• Articulação do quadril próxima do normal• A cabeça femoral e o acetábulo são ligeiramente incongruentes e o ângulo de Norberg próximo de 105° ou são congruentes e o ângulo de Norberg inferior a 105°
C	<ul style="list-style-type: none">• Displasia Coxofemoral Leve• A cabeça femoral e o acetábulo são incongruentes, e o ângulo de Norberg é de aproximadamente 100° e/ou ligeiros sinais de osteoartrose no acetábulo ou cabeça e colo femoral
D	<ul style="list-style-type: none">• Displasia Coxofemoral Moderada• Evidente incongruência entre cabeça femoral e acetábulo com subluxação presente. O ângulo de Norberg é de mais de 90°. Presença de sinais de osteoartrose
E	<ul style="list-style-type: none">• Displasia Coxofemoral Severa• Alterações displásicas acentuadas como subluxação ou clara subluxação. O ângulo de Norberg é inferior a 90°. Sinais avançados de osteoartrose

388

389

390

391

392

393

394

395

396

397

398

399

400

401

Breve Inventário de dor canina (BIDC)402 **Descrição da dor:**

403

Classifique a dor do seu cachorro.

404

1. Preencha o espaço oval do lado do número que melhor descreve a **pio**r dor nos últimos sete dias

405

 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

406

2. Preencha o espaço oval do lado do número que melhor descreve a **menor** dor nos últimos sete dias

407

 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

408

3. Preencha o espaço oval do lado do número que melhor descreve a **média** de dor nos últimos sete dias

409

 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

410

4. Preencha o espaço oval do lado do número que melhor descreve como está **agora**

411

 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

412

413

414 **Descrição da função:**

415

Preencha o espaço oval do lado do número que melhor descreve como, durante os últimos sete dias, a **dor interferiu** no seu cachorro com relação a:

416

417

5. **Atividades em geral:**

418

 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

419

420

6. **Prazer da Vida**

421

 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

422

423

7. **Capacidade de se levantar de quando estava deitado:**

424

 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

425

426

8. **Capacidade de andar:**

427

 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

428

429

9. **Capacidade de correr**

430

 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

431

432

10. **Capacidade de subir (por exemplo, escada, passeio “calçada”)**

433

 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

434

435 **Impressão geral:**

436 11. Preencha o espaço oval do lado da resposta que melhor descreve a qualidade de vida em geral do
 437 seu cachorro **nos últimos sete dias?**

438 Ruim razoável Muito ruim boa Excelente

Questionário número

441 1 2 3 4 5 6 7 8

442

443

444

445 Nome do/a proprietário/a _____

446

447 Número do/a paciente _____

448

449 Nome do/a cachorro/cadela _____ Idade _____

450

451 Raça do/a cachorro/cadela _____

452

453 Diagnóstico _____

454

455 Assinatura da pessoa que completa o questionário _____

456

457

458

459 **Estado geral do/a paciente agora**

460

461 Marque com um "X" apenas uma resposta para cada pergunta: aquela que melhor explica o estado
 462 de seu/sua cachorro/cadela na semana passada.

463

464

465 1. Estado de ânimo está:

466 muito ativo ativo nem ativo, nem abatido abatido muito abatido

467

468

469 2. O cachorro/a cadela brinca:

470 com muita vontade com vontade com má vontade com muita má vontade não brinca

471

472

473 3. O cachorro/a cadela chora de dor:

474 nunca raramente às vezes frequentemente muito frequentemente

475

476

477 4a. O cachorro/a cadela anda:

478 com muita com com com muita não anda

479 vontade vontade dificuldade dificuldade

480

481

482 4b. O cachorro/a cadela anda:

483 muito facilmente facilmente razoavelmente dificilmente muito dificilmente

484

485

486

487 5a. O cachorro/a cadela trota:

488 com muita com com com muita não trota

489 vontade vontade dificuldade dificuldade

490

491 5b. O cachorro/a cadela trota:

492 muito facilmente facilmente dificilmente muito dificilmente não trota

493

494

495 6a. O cachorro/a cadela galopa:

496 com muita com com com muita não galopa

497 vontade vontade dificuldade dificuldade

498

499

500 6b. O cachorro/a cadela galopa:

501 muito facilmente facilmente dificilmente muito dificilmente não galopa

502

503

504 7a. O cachorro/ a cadela pula (por exemplo no sofá, no carro):

505 com muita com com com muita não pula

506 vontade vontade dificuldade dificuldade

507

508

509 7b. O cachorro/ a cadela pula (por exemplo no sofá, no carro):

510 muito facilmente facilmente dificilmente muito dificilmente não pula

511

512

513 8. O cachorro/ a cadela se deita:

514 muito facilmente facilmente razoavelmente dificilmente muito dificilmente

515

516

517 9. O cachorro/a cadela se levanta de uma posição deitada:

518 muito facilmente facilmente razoavelmente dificilmente muito dificilmente

519

520

521 10. Após um longo descanso, o cachorro/a cadela se move:

522 muito facilmente facilmente razoavelmente dificilmente muito dificilmente

523

524

525 11. Após um esforço físico ou esforço intenso, o cachorro/a cadela se move:

526 muito facilmente facilmente razoavelmente dificilmente muito dificilmente

527

528

529

530 Obrigado pela sua ajuda!

531

532

533

534

535

536

537

538

539

540

541

542

543

544

545

546

547 **Observações do veterinário:**

548

549

550

551

552

553

554 **Referências**

555

556 Ashton, A.C., Dolly, J.O., 1988. Characterization of the inhibitory action of botulinum neurotoxin type
557 A on the release of several transmitters from rat cerebrocortical synaptosomes. *Journal of*
558 *Neurochemistry* 50, 1808–1816.

559

560 Bauerova, K., Ponist, S., Kuncirova, V., Mihalova, D., Paulovicova, E., Volpi, N., 2011. Chondroitin
561 sulfate effect on induced arthritis in rats. *Osteoarthritis and Cartilage* 19, 1373–1379.

562

563 Bot, P.T., Hofer, I.E., Piek, J.J., Pasterkamp, G., 2008. Hyaluronic acid: targeting immune modulatory
564 components of the extracellular matrix in atherosclerosis. *Current Medicinal Chemistry* 15,
565 786-791.

566

567 Brown, D.C., Boston, R.C., Coyne, J.C., Farrar, J.T., 2008. Ability of the canine brief pain inventory to
568 detect response to treatment in dogs with osteoarthritis. *Journal of the American Veterinary*
569 *Medical Association* 233, 1278-1283.

570

571 Brown, D.C., Boston, R.C., Farrar, J.T., 2013. Comparison of force plate gait analysis and owner
572 assessment of pain using the canine brief pain inventory in dogs with osteoarthritis. *Journal*
573 *of Veterinary Internal Medicine* 27, 22-30.

574

575 Chen, H.S., Chang, K.H., Kang, J.H., Hsu, Y.H., Hsu, A.C., Chen, S.C., 2011. Treatment of frozen
576 shoulder with intra-articular injection of botulinum toxin in shoulder joints. *Medical*
577 *Hypotheses* 77, 305-307.

578

579 Chou, C.L., Lee, S.H., Lu, S.Y., Tsai, K.L., Ho, C.Y., Lai, H.C., 2010 . Therapeutic effects of intra-articular
580 botulinum neurotoxin in advanced knee osteoarthritis. *Journal of the Chinese Medical*
581 *Association* 73, 573-580.

582

583 Daubs, B.M., Markel, M.D., Manley, P.A., 2006. Histomorphometric analysis of articular cartilage,
584 zone of calcified cartilage, and subchondral bone plate in femoral heads from clinically
585 normal dogs and dogs with moderate or severe osteoarthritis. *American Journal of*
586 *Veterinary Research* 67, 1719-1724.

587

588 Durham, P.L., Cady, R., Cady, R., 2004. Regulation of calcitonin gene-related peptide secretion from
589 trigeminal nerve cells by botulinum toxin type A: implications for migraine therapy.
590 *Headache* 44, 35-42.

591

- 592 Edamura, K., King, J.N., Seewald, W., Sakakibara, N., Okumura, N., 2012. Comparison of oral
593 robenacoxib and carprofen for the treatment of osteoarthritis in dogs: A randomized clinical
594 trial. *Journal of Veterinary Medical Science* 74, 1121-1131.
595
- 596 Fransen, M., Agaliotis, M., Nairn, L., Votrubec, M., Bridgett, L., Su, S., Jan, S., March, L., Edmonds, J.,
597 Norton, R., Woodward, M., Day, R., 2015. Glucosamine and chondroitin for knee
598 osteoarthritis: a double-blind randomized placebo-controlled clinical trial evaluating single
599 and combination regimens. *Annals of the Rheumatic Disease* 74, 851-858.
600
- 601 Gail, K.S., Georga, T.K., Kimberly, A.A., Mischa, B.M., 2012. Pathogenesis, Diagnosis, and Control of
602 Canine Hip Dysplasia. In: Toias, K.M., Johnston, S.A. (Eds). *Veterinary Surgery Small Animal*,
603 4th Edn. Elsevier Saunders, St. Louis, MO, USA, pp. 824-848.
604
- 605 Hadley, H.S., Wheeler, J.L., Petersen, S.W., 2010. Effects of intra-articular botulinum toxin type A
606 (Botox) in dogs with chronic osteoarthritis. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and*
607 *Traumatology* 23, 254-258.
608
- 609 Heikkilä, H.M., Hielm-Björkman, A.K., Morelius, M., Larsen, S., Honkavaara, J., Innes, J.F., Laitinen-
610 Vapaavuori, O.M., 2014. Intra-articular botulinum toxin A for the treatment of osteoarthritic
611 joint pain in dogs: A randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. *The*
612 *Veterinary Journal* 200, 162-169.
613
- 614 Hielm-Björkman, A.K., Kuusela, E., Liman, A., Markkola, A., Saarto, E. Huttunen, P., Lepaluotto, J.,
615 Tulamo, R.N., Raekallio M., 2003. Evaluation of methods of assessment of pain associated
616 with chronic osteoarthritis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*
617 222, 1552-1558.
618
- 619 Hielm-Bjorkman, A.K., Rita, H., Tulamo, R.M., 2009. Psychometric testing of the Helsinki chronic pain
620 index by completion of a questionnaire in Finnish owners of dogs with chronic signs of pain
621 caused by osteoarthritis. *American Journal of Veterinary Research* 70, 727-734.
622
- 623 Hochberg, M.C., 2010. Structure-modifying effects of chondroitin sulfate in knee osteoarthritis: an
624 updated meta-analysis of randomized placebo-controlled trials of 2-year duration.
625 *Osteoarthritis and Cartilage* 18, 28-31.
626
- 627 Johnston, S.A., McLaughlin, R.M., Budsberg, S.C., 2008. Nonsurgical management of osteoarthritis in
628 dogs. *Veterinary Clinics of North American: Small Animal Practice* 38, 1449-1470.
629
- 630 Kitagawa, J., Kanda, K., Sugiura, M., Tsuboi, Y., Ogawa, A., Shimizu, K., Koyama, N., Kamo, H.,
631 Watanabe, T., Ren, K., Iwata, K., 2005. Effect of Chronic Inflammation on Dorsal Horn
632 Nociceptive Neurons in Aged Rats. *Journal of Neurophysiology* 93, 3594-3604.
633
- 634 Liesegang, A., Limacher, S., Sobek, A., 2007. The effect of carprofen on selected markers of bone
635 metabolism in dogs with chronic osteoarthritis. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 149, 353-
636 362.
637
- 638 Lin, A.T., Yang, A.H., Chen, K.K., 2007. Effects of botulinum toxin A on the contractile function of dog
639 prostate. *European Urology* 52, 582-589.
640
- 641 Lipscomb, J.A., Trinkoff, A.M., Geiger-Brown, J., Brady, B., 2002. Work-schedule characteristics and
642 reported musculoskeletal disorders of registered nurses. *Scandinavian Journal of Work,*
643 *Environment & Health* 28, 394-401.

- 644
645 Luna, S.P.L., Basilio, A.C., Steagall, P.V.M., Machado, L.P., Moutinho, F.Q., Takahira, R.M., Brandao,
646 C.V.S., 2007. Evaluation of adverse effects of long-term oral administration of carprofen,
647 etodolac, flunixin meglumine, ketoprofen and meloxicam in dogs. *American Journal of*
648 *Veterinary Research* 68, 258–264.
- 649 Mansa, S., Palmér, E., Grøndahl, C., Lønnaas, L., Nyman, G., 2007. Long-term treatment with carprofen
650 of 805 dogs with osteoarthritis. *Veterinary Record*, 160, 427-430.
- 651
652 Mahowald, M.L., Singh, J.A., Dykstra, D., 2006. Long term effects of intra-articular botulinum toxin A
653 for refractory joint pain. *Neurotoxicity Research* 9, 179-188.
- 654
655 Martel-Pelletier, J., Farran, A., Montell, E., Vergés, J., Pelletier, J., 2015. Discrepancies in Composition
656 and Biological Effects of Different Formulations of Chondroitin Sulfate. *Molecules* 20, 4277-
657 4289.
- 658
659 Mathews, K.A., 1996. Nonsteroidal anti-inflammatory analgesics in pain management in dogs and cats.
660 *The Canadian Veterinary Journal* 37, 539-545.
- 661
662 McCarthy, G., O'Donovan, J., Jones, B., McAllister, H., Seed, M., Mooney, C., 2007. Randomised
663 double-blind, positive-controlled trial to assess the efficacy of glucosamine/chondroitin
664 sulfate for the treatment of dogs with osteoarthritis. *The Veterinary Journal* 174, 54-61.
- 665
666 Minto, B.W., Monteiro, B.P., Brandão, C.V.S., Padovani, C.R., Mamprim, M.J., Filgueira, F.G.F., 2013.
667 Retrospective study of 180 dysplastic dogs admitted at the Veterinary Teaching Hospital,
668 Unesp-Botucatu. *Veterinária e Zootecnia* 20, 624-631.
- 669
670 Monfort, J., Pelletier, J.P., Garcia-Giralt, N., Martel-Pelletier, J., 2008. Biochemical basis of the effect
671 of chondroitin sulphate on osteoarthritis articular tissues. *Annals of the Rheumatic Disease*
672 67, 735-740.
- 673
674 Permuy, M., Guede, D., López-Peña, M., Muñoz, F., Caeiro, J.R., González-Cantalapiedra, A., 2015.
675 Comparison of various SYSADOA for the osteoarthritis treatment: an experimental study in
676 rabbits. *BMC Musculoskeletal Disorders* 16, 120.
- 677
678 Pollmeier M, Toulemonde C, Fleishman C, Hanson PD: Clinical evaluation of firocoxib and carprofen
679 for the treatment of dogs with osteoarthritis. *Vet Rec* 2006, 159: 547-51.
- 680
681 Sanchez-Prieto, J., Sihra, T.S., Evans, D., Ashton, A.C. Dolly, J.O., Nicholls, D.G., 1987. Botulinum toxin
682 A blocks glutamate exocytosis from guinea-pig cerebral cortical synaptosomes. *European*
683 *Journal of Biochemistry* 165, 675–681.
- 684
685 Salazar, V., Dewey, C. W., Schwark, W., et al. (2009) Pharmacokinetics of single-dose oral pregabalin
686 administration in normal dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 36, 574-580
- 687
688 Schaible, H., Schmelz, M., Tegeder, I., 2006. Pathophysiology and treatment of pain in joint disease.
689 *Advanced Drug Delivery Reviews* 58, 323–342.
- 690
691 Singh, J.A., Mahowald, M.L., Noorbaloochi, S., 2010. Intraarticular botulinum toxin a for refractory
692 painful total knee arthroplasty: A randomized controlled trial. *Journal of Rheumatology* 37,
693 2377–2386.
- 694
695 Tat, S.K., Pelletier, J.P, Vergés, J., Lajeunesse, D., Montell, E., Fahmi, H., Lavigne, M., Pelletier, J.M.,

- 696 2007. Chondroitin and glucosamine sulfate in combination decrease the pro-resorptive
697 properties of human osteoarthritis subchondral bone osteoblasts: a basic science study.
698 Arthritis Research & Therapy 9, R117.
699
- 700 Vieira, G.L.T., Torres, R.C.S., Barros, G.S., Rocha, B.D., Rezende, C.M.F., 2010. Associations among
701 Norberg angle, percentage of femoral head coverage, cortico-medullary index, and femoral
702 inclination angle in dogs with hip dysplasia. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e
703 Zootecnia 62,1094-101.
704
- 705 Wildi, L.M., Raynauld, J.P., Martel-Pelletier, J., Beaulieu, A., Bessette, L., Morin, F., Abram, F., Dorais,
706 M., Pelletier, J.P., 2011. Chondroitin sulphate reduces both cartilage volume loss and bone
707 marrow lesions in knee osteoarthritis patients starting as early as 6 months after initiation of
708 therapy: a randomised, double-blind, placebo-controlled pilot study using MRI. Annals of the
709 Rheumatic Disease 70, 982–989.
710
- 711 Yang, S., Eaton, C.B., McAlindon, TE., Lapane, K.L., 2015. Effects of glucosamine and chondroitin
712 supplementation on knee osteoarthritis: an analysis with marginal structural models.
713 Arthritis & Rheumatology 67, 714-723.
714
- 715 Yim, Y., Lee, H., Hong, K., Kim, Y., Lee, B., Son, C., Kim, J., 2007. Electro-Acupuncture at Acupoint
716 ST36 Reduces Inflammation and Regulates Immune Activity in Collagen-Induced Arthritic
717 Mice. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 4, 51-57.
718
- 719
- 720
- 721
- 722
- 723
- 724
- 725
- 726
- 727
- 728
- 729
- 730
- 731
- 732
- 733

734 Figuras

735

736

737

738

739

740

741

742

743

744

745

746

747

748

749

750

751

752

753

754

755

756

757

758

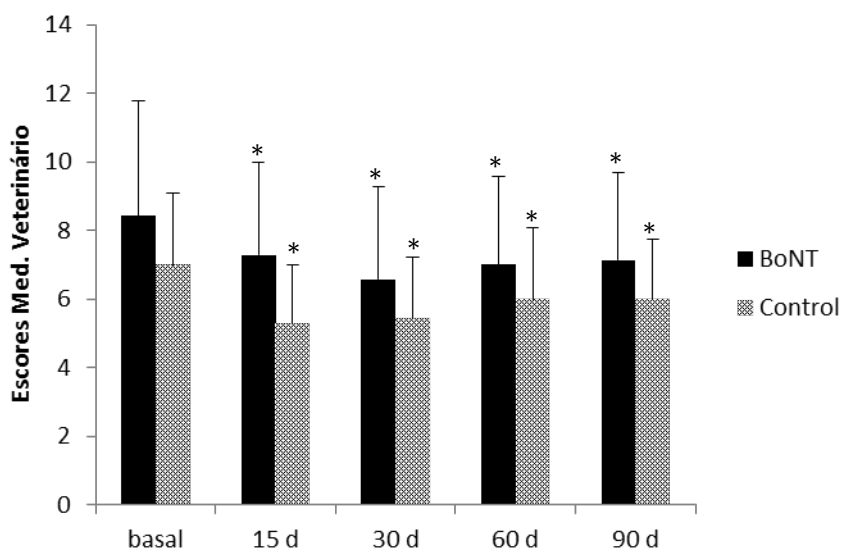
759

760

761

762

763



*Diferença significativa em relação ao basal (Teste de Tukey; $P < 0,0001$).

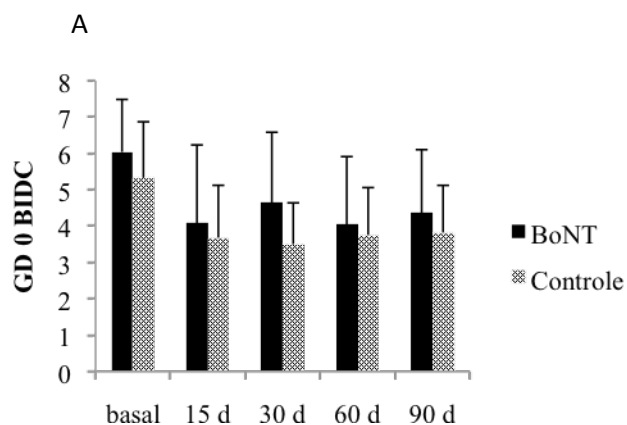
758 Figura 1. Valores médios e desvio padrão do somatório dos escores avaliados pelo médico
759 veterinário em cães com displasia coxofemoral tratados com toxina botulínica tipo A por via intra-
760 articular (BoNT, n=7) ou com tratamento placebo (Controle, n=7).

761

762

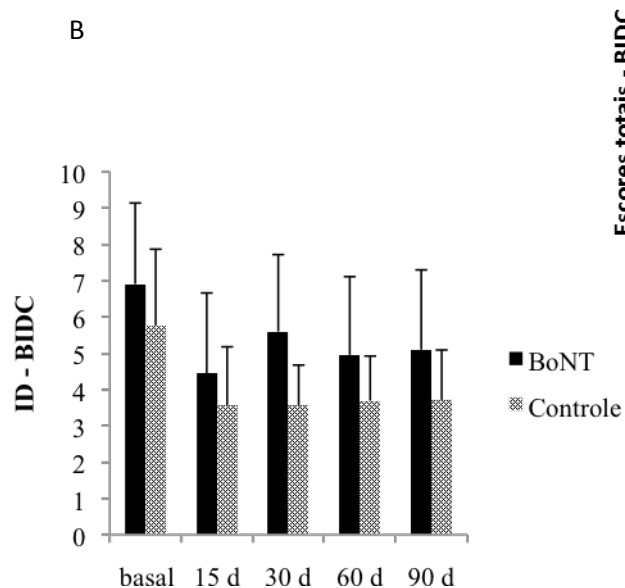
763

764



765

766



767

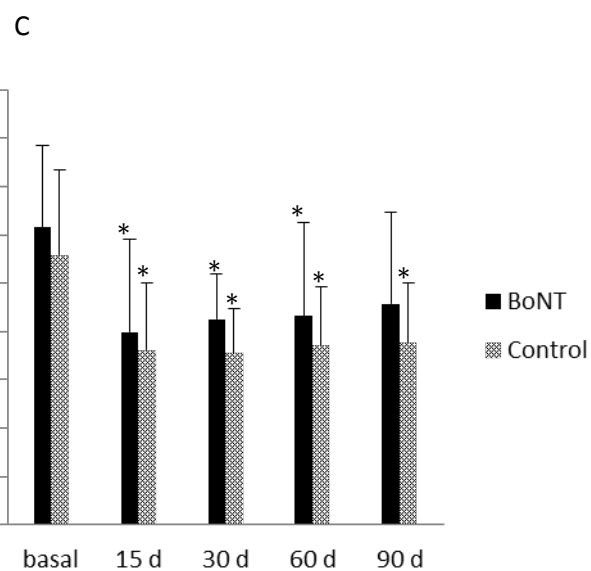
768

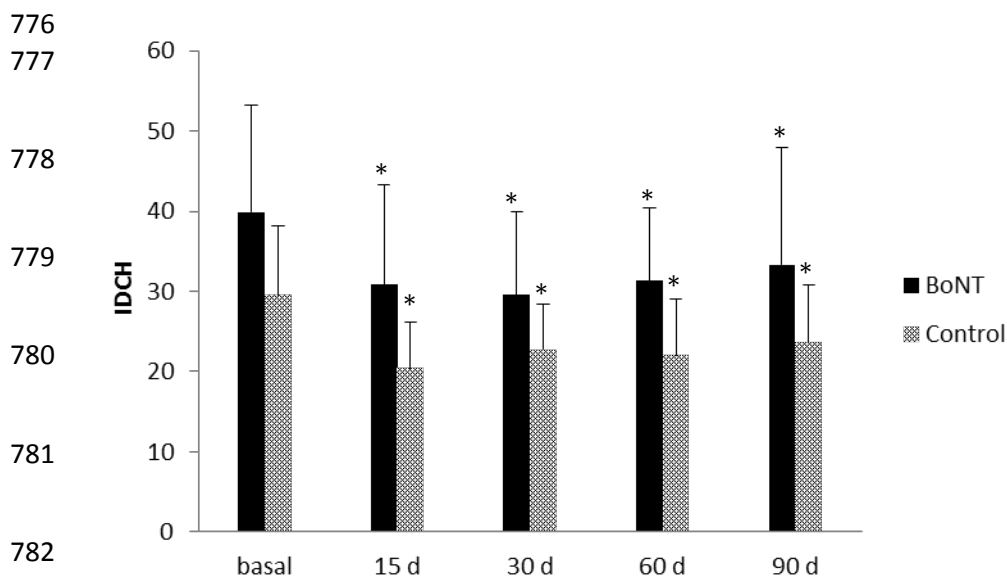
769 *Diferença significativa em relação ao basal (teste de Tukey; $P = 0,0128$: BoNT, $P < 0,0001$: Controle).

770

771

772 Figura 2. Valores médios e desvio padrão do somatório dos escores avaliados pelo Breve Inventário
 773 da Dor Canina (BIDC) referentes à gravidade da dor (GD) (a), interferência da dor (ID) (b) e escores
 774 totais (c) de cães com displasia coxofemoral tratados toxina botulínica tipo A por via intra-articular
 775 (BoNT, n=7) ou com tratamento placebo (Controle, n=7).





*Diferença significativa em relação ao basal (teste de Tukey; $P = 0,0006$: BoNT, $P = 0,0001$: Controle).

Figura 3. Valores médios e desvio padrão do somatório dos escores avaliados pelo Índice de Dor Crônica de Helsinque (IDCH) de cães com displasia coxofemoral tratados toxina botulínica tipo A por via intra-articular (BoNT, $n=7$) ou com tratamento placebo (Controle, $n=7$).

ANEXO – NORMAS DE PUBLICAÇÃO



THE VETERINARY JOURNAL

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

XXX

● Description	p.1
● Audience	p.1
● Impact Factor	p.1
● Abstracting and Indexing	p.1
● Editorial Board	p.2
● Guide for Authors	p.4



ISSN: 1090-0233

DESCRIPTION

The Veterinary Journal publishes worldwide contributions on all aspects of **veterinary science** and its related subjects. It provides regular book reviews and a short communications section. The journal regularly commissions topical reviews and commentaries on features of major importance. Research areas include **infectious diseases**, applied biochemistry, parasitology, endocrinology, microbiology, immunology, pathology, pharmacology, physiology, molecular biology, immunogenetics, surgery, ophthalmology, dermatology and oncology.

The Veterinary Journal continues the title *British Veterinary Journal*, the name change reflecting the international nature of the Journal, in both content and editorial team.

Benefits to authors

We also provide many author benefits, such as free PDFs, a liberal copyright policy, special discounts on Elsevier publications and much more. Please click here for more information on our [author services](#).

Please see our [Guide for Authors](#) for information on article submission. If you require any further information or help, please visit our support pages: <http://support.elsevier.com>

AUDIENCE

Research Workers in Veterinary Science

IMPACT FACTOR

2014: 1.755 © Thomson Reuters Journal Citation Reports 2015

ABSTRACTING AND INDEXING

Current Contents/Agriculture, Biology & Environmental Sciences
 Medline/Index Medicus
 Focus on: Veterinary Science and Medicine
 Science Citation Index
 Excerpta Medica
 Scopus

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

Andrew J. Higgins, United Kingdom

Senior Scientific Editor

Adrian W. Philbey, United Kingdom

Scientific Editors

Simon Bailey, Australia

Vanessa Barrs, Australia

Marijke Beltman, Ireland

Eric A. Blomme, USA

Makoto Bonkobara, Japan

Brian Catchpole, United Kingdom

Wayne R. Hein, Australia

Annette Litster, USA

Christopher Whitton, Werribee, Victoria, Australia

Claire Wylie, Suffolk, England, UK

Books Editor

Derek Knottenbelt, OBE, DVM&S, DipECEIM, MRCVS, Glasgow, Scotland, UK

Editorial Office

Advisory Board

David J. Argyle, United Kingdom

David C. Barrett, United Kingdom

Sara Bennett, Berwyn, Illinois, USA

Sofie Bhatti, Belgium

Lisa Boden, United Kingdom

Sabine Breit, Austria

Joseph P. Cassidy, Ireland

Yu-mei Chang, United Kingdom

Peter D. Constable, USA

Pieter Cornillie, Belgium

Stephen Dunham, United Kingdom

Sue Dyson, United Kingdom

Daniel Elad, Israel

Virginia Fajt, USA

Kannan Ganapathy, United Kingdom

Robert O. Gilbert, USA

Mario Giorgi, Italy

Catherine Hackett, USA

Nicholas Jonsson, United Kingdom

Nathalie Kirschvink, Belgium

Johann Kofler, Austria

M. Fabiana Landoni, Argentina

Richard A. Laven, Palmerston North, New Zealand

Dominiek Maes, Belgium

Lorella Maniscalco, Italy

Catherine McGowan, Neston, UK

Cathryn Mellersh, United Kingdom

Sam Millet, Belgium

Paul C. Mills, Australia

Reinhardt Mischke, Germany

Ali Mobasher, United Kingdom

Martina Mosing, Switzerland

Ralf Mueller, Germany

Hideo Murata, Japan

Frank Nicholas, Australia

Tanja Opriessnig, United Kingdom

Frederick D. Quinn, USA

Christopher M. Riggs, Hong Kong

Mark Rishniw, USA

Konrad Sachse, Germany

Rance K. Sellon, DVM, PhD, DACVIM, Pullman, Washington, USA

Hein van Lith, The Netherlands

René van Weeren, The Netherlands

Kurt Verkest, Hong Kong

Claire Wade, BSc (Hons) PhD GCertEd, Sydney, New South Wales, Australia

Andrew S. Waller, United Kingdom

Dan Weary, Canada

Joshua Webster, DVM, PhD, DACVP, San Francisco, California, USA

Hsin-Yi Weng, USA

Dick White, UK

Panagiotis G. Xenoulis, USA

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

The Veterinary Journal (established 1875) is an international journal of veterinary research that publishes original papers and reviews on all aspects of veterinary science. Contributions reporting investigative work in the scientific disciplines involving veterinary species are particularly welcome where they make a significant contribution to the field. The Editors will be pleased to consider suggestions for Special Issues on subjects of topical importance. The journal also publishes Guest Editorials and occasionally Personal Views, but does not have a Letters section. Book Reviews are published on-line.

Types of paper

Manuscripts may describe original work in a Full Paper (Original Article) or a Short Communication, or may form a Review of the existing state of knowledge on a particular aspect of veterinary science. Reviews should, in general, be written in support of original investigations. Case Reports are not published.

Reporting Standards

The Editors and reviewers use several published guidelines for reporting standards (see Appendix below). Conforming to these reporting standards allows the Editors and reviewers to assess the quality and originality of submissions and offers readers sufficient information to judge the relevance of the work in an appropriate context. Omission of requirements specified in the relevant guidelines for reporting standards may lead to rejection of a manuscript. For further information, please see *The Veterinary Journal* (2010) 184, 249-250 ([view article](#)).

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>.

Animal welfare

Where animals have been used in a study, the institutional ethical or animal welfare Authority under which the work was conducted must be stated, along with the specific authorisation reference number and the date of approval. Such studies must meet Animals in Research: Reporting In Vivo Experiments (ARRIVE) guidelines ([view article](#)). The Veterinary Journal will reject any paper where there is reason to believe that animals have been subjected to unnecessary or avoidable pain or distress.

Conflict of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>. Further information and an example of a Conflict of Interest form can be found at: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/286/p/7923.

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/sharingpolicy>), 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

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 third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license (see <http://www.elsevier.com/openaccesslicenses>).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. For more information see <http://www.elsevier.com/copyright>.

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.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some authors may also be reimbursed for associated publication fees. To learn more about existing agreements please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

After acceptance, open access papers will be published under a noncommercial license. For authors requiring a commercial CC BY license, you can apply after your manuscript is accepted for publication.

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 on their behalf e.g. by their research funder or institution

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our universal access programs (<http://www.elsevier.com/access>).
- No open access publication fee payable by authors.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following Creative Commons user licenses:

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial 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.

The open access publication fee for this journal is **USD 3000**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our green open access page for further information (<http://elsevier.com/greenopenaccess>). Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and begins from the publication date of the issue your article appears in.

This journal has an embargo period of 12 months.

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.

Please note that there are a number of commercial organisations that will assist non-English speaking Authors in preparing their manuscripts for publication in international peer-reviewed journals. Further advice is available from Elsevier at <http://www.elsevier.com/locate/languagepolishing>. Some such services only offer help to improve the use of English and it remains the Authors responsibility to ensure that TVJ's layout and formatting requirements are also met.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Options will be given for Authors to select a set of classifications for their papers, as well as a category designation (Original Article, Review, Short Communication etc.), from a given list.

Authors must submit articles in WORD format and not as PDF files. PDF proofs will be automatically generated from uploaded files and these are used for subsequent reviewing. Queries concerning the submission process or journal procedures should be sent by e-mail to: AuthorSupport@elsevier.com.

The Corresponding Author, who is normally the Author submitting the paper, will be asked to confirm that the article is original and is not being considered for peer-reviewed publication elsewhere. Submission also implies that all of the Authors have approved the paper for release and are in agreement with its content. Upon acceptance of the article by The Veterinary Journal, the Author(s) will be asked to transfer the copyright of the article to the Publisher. This transfer will ensure the widest possible dissemination of information.

The Corresponding Author will also be required to confirm that all Authors have made substantial contributions to (1) the conception and design of the study or acquisition of data or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, and (3) final approval of the version to be submitted. Contributors who do not meet these criteria

for authorship should be listed in an Acknowledgements section. Examples of those who might be acknowledged include a person who provided purely technical help, writing assistance, or a Departmental Chair who gave general support.

Submit your article

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/ytvjl>.

PREPARATION

Use of Word Processing Software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. 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>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. 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

Authors submitting papers that are suitable for consideration but do not comply fully with this Guide will be asked to amend the text and re-submit. Model article formats in WORD are available (click to follow link below as appropriate): [Original Article](#) [Short Communication](#) [Review](#) [Guest Editorial](#) [Personal View](#) [Book Review](#)

Original Articles should be no longer than 3,000 words in length, excluding the Title page, Abstract, Acknowledgements, Tables, Figures and References. Reviews should be about 4,000 words in length and Short Communications up to 1,000 words.

Articles

Original Articles should be arranged as follows: (1) Title page; (2) an Abstract of up to 250 words (with no sub-headings), which should emphasise objectives, the experimental procedure, results and conclusions; up to five Keywords in alphabetical order and in Title case should be supplied below the Abstract; (3) the main text must be sub-divided into Introduction, Materials and methods, Results, Discussion, and Conclusions; (4) Conflict of interest statement; (5) Acknowledgements; (6) Appendix: Supplementary material (where this is provided; see below); (7) References; (8) Tables; (9) Figure legends; (10) Figures (uploaded as separate files). The sections should not be numbered. Please see the model article provided ([view here](#))

Please note: Insert a page break only after the Title page, after the Abstract with Keywords, after the References section, between each Table, and before the Legends to figures. The Results and Discussion sections must be distinct and not combined. Avoid sub-headings in the Discussion section. References must not be included within the Conclusions section. The first person (I, we, our) must be avoided in the Abstract, but may be used elsewhere in the paper.

Tables should be included within the article and placed sequentially after the References, but before the Figure legend(s), with one Table per page.

Figure legends should be included in the main manuscript file after any Tables. Each figure should be uploaded as a separate file (Fig. 1, Fig. 2 etc.).

Short Communications should follow the requirements for full manuscripts, but the text must not exceed 1,000 words and the paper should not be divided into conventional sections. Headings for the Abstract, Keywords, Acknowledgements, Conflict of interest statement and References should be included, but there should be no other headings or subheadings in the main text. There should be

no more than 10 references in a Short Communication. An Abstract of not more than 125 words is required and up to five Keywords should be supplied below it. Please see the model article provided ([view here](#)).

Review Articles may be commissioned or proposed. Authors wishing to submit a review article are advised to contact the Editor at tvj@aht.org.uk. Reviews are about 4000 words in length and may cover any relevant aspect of veterinary science or comparative medicine. Reviews should follow the layout for Original Articles, but with the main text subdivided as appropriate to the subject matter, starting with an Abstract and Introduction and incorporating Conclusions and a Conflict of interest statement. Sections should not be numbered. Please see the model article provided ([view here](#)).

Guest Editorials are commissioned by the editors; unsolicited Guest Editorials must not be submitted. Commissioned Guest Editorials are usually 500-1000 words in length and must follow the layout of the model article provided ([view here](#)). They usually include references, but should not be divided into sections and no Acknowledgements or Conflict of interest statement are required. Where a Guest Editorial is commissioned to accompany another article, it must refer to that article in the text and the reference should be provided in TVJ format at the end of the Editorial.

Personal Views are commissioned by the Editors; unsolicited Personal Views must not be submitted without the agreement of the Editors. Authors must follow the format of the model article provided ([view here](#)). It is at the Editors' discretion whether a Personal View should be sent to reviewers or whether or not it will be published in TVJ. The length of the Personal View must be agreed with the Editors in advance of submission.

Book reviews

Publishers or Authors wishing to have a book considered for review in The Veterinary Journal should first contact the Books Editor at tvj@aht.org.uk. Book reviews are published in electronic format only.

Subdivision - unnumbered sections

Divide your article into clearly defined sections. Each subsection is given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line. Subsections should be used as much as possible when cross-referencing text: refer to the subsection by heading as opposed to simply 'the text'.

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.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. 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 the e-mail address is given and that contact details are 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

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. 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 and 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 editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). See <http://www.elsevier.com/highlights> for examples.

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.).

Prior presentation of data

Prior presentation of results, in the form of abstracts, posters or oral presentations at conferences, must be mentioned clearly in the Acknowledgements, with wording along the lines of: "Preliminary results were presented as an Abstract at the 9th International Congress of Veterinary Virology, Madrid, 4th-7th September 2012."

(Nomenclature and) Units

Units. Metric units must be used. If other units need to be given, they must be placed in brackets after the metric equivalent. Units, symbols and abbreviations of units should conform to the International System of Units as defined in Baron, D.N., McKenzie-Clarke, H., 2008, *Units, Symbols and Abbreviations: A Guide for Authors and Editors in Medicine and Related Sciences*, 6th Ed., The Royal Society of Medicine, London ([available here](#)). All other abbreviations should be unambiguous and should be clearly explained where they are first mentioned in the Abstract and text. Do not list abbreviations separately.

Note that litre is abbreviated to 'L', millilitre 'mL', (also mmol/L etc.); probability is given as P (upper case italics), as in $P < 0.05$; also note 'Student's t test' and Mann-Whitney U test; correlation coefficient r as in $r = 0.92$, coefficient of determination, r^2 as in $r^2 = 0.72$; standard deviation and standard error should be abbreviated to SD and SE, respectively; hour, minute and second are abbreviated to h, min and s; day, week and year are given in full. For drug dose frequency use e.g. 'three times daily' or '8-hourly' rather than Latin terms such as t.i.d. or q 8 h. Where centrifugation has been performed, use g values not rpm. Other common abbreviations include 'IV' for intravenous or intravenously, 'IM' for intramuscular or intramuscularly, 'SC' for subcutaneous and subcutaneously, 'PO' for per os or orally; use 'vs.' for 'versus'. Use the abbreviation G for gauge of needle. The symbol for degrees Celsius should be written in the format '°C', with the value separated from the unit by a space, e.g. '37 °C'. Use the WORD symbols for ±, Greek letters etc. Percentages should be referred to as, for example, '15%' or 'Fifteen per cent' when starting a sentence. Note also 'post-mortem' and 'ante-mortem'.

When a number is followed by a unit use the digits as in '10 mL' unless starting a sentence in which case write in full 'Ten microlitres'. When the number describes a quantity of items write the number in full up to ten as 'four sheep' or 'ten tubes' then in digital form thereafter as '24 horses' or '200 blood samples'. Avoid the symbol # or abbreviation 'No.' for 'number'.

Single ('...') quotation marks should be used for specific extracts, as in: "A PubMed search utilizing the search terms 'canine castration local anaesthesia' returned three publications." Where a reference is cited or a quote given, use single quotation marks and place the text in italic font as: "However, in the 'Recommended Guideline for the Conduct and Evaluation of Prognostic Studies in Veterinary Oncology' developed recently by the American College of Veterinary Pathologists ..." Double ("...") quotation marks should be avoided.

Anatomical terminology. Terminology should comply with the World Association of Veterinary Anatomists *Nomina Anatomica Veterinaria* (2005) and terms should be given in English where possible

(see: http://www.wava-amav.org/Downloads/nav_2005.pdf).

Currencies. A footnote should be inserted at first use if a currency is given in the text, as in 'UK £5001' and conversion rates provided using the following three currencies US\$, UK£ and Euros (€). The footnote should read as appropriate, for example: '£1 = approx. US\$1.60, €1.24 at 2 December 2012.' Rates can be updated by the Author at proof stage if necessary. An easy to use currency converter is available here: <http://uk.reuters.com/business/currencies>.

Manufacturers. Manufacturers and suppliers should be indicated within the text after the name of the product. For example: 'diazepam (Valium, Roche)' or 'using an infusion pump (Medfusion 2010, Medex)'. Addresses/locations of manufacturers should not be given and the use of ® or ™ should be avoided. Note: proprietary names must not appear in the title or Abstract.

Applying capital letters to directions. Compass directions such as North, South, East and West, as well as their derivatives, such as North-East, North-West, South-East and South-West, should be capitalised when they are used to designate defined or recognised geographical regions, or when they are an integral part of a proper name. Examples include "Eastern Europe", "Southern France", "North-East England", "in the North", "down South", "the West Coast" and "the Eastern Seaboard", "the Western Region of Kazakhstan", "Southern California". Compass directions should not be written with capital letters when they indicate general locations or directions without a specific location. Examples include "bluetongue virus initially spread in a north-westerly direction on air currents", "the northern boundary of the quarantine zone", "cases were clustered in the east of the region", "westerly winds". The first letter of each word of a Compass direction should be capitalised when used to refer to people in a region, particularly in social, cultural or political contexts. Examples include "wildebeest are hunted by the Southern tribes", "horses have been an integral part of Western civilisation since the Middle Ages". Words such as northern, southern, eastern, and western that precede a place name usually are not capitalised, since they indicate a general location within a region. When these words are an integral part of the place name, they should be capitalised. For example, write "northern Connecticut", but "Northern Ireland" and "Western Australia".

Nucleotide sequences

Submission of a manuscript implies that primary nucleotide sequence data will be deposited with an internationally available repository. Sequence reference numbers should be provided, where appropriate, in the main text, Tables, Figures or as an e-only supplementary file.

Artwork

Figures. The quality of all Figures submitted must be high. The Editors will reject Figures of an unacceptable standard or ask the Authors to replace them. Figures should be referred to sequentially in the text as Fig. 1, Fig. 2, Figs. 3a,b and 4, etc. A Legend must be provided for each Figure and placed after any Tables in the main manuscript file. Do not write legends on the figures themselves. Scale bars must be provided on all photomicrographs and electron micrographs.

In preparing figures, Authors should note the following: Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork. Save text in figures as "graphics" or enclose the font. Only use the following fonts in your figures: Times New Roman, Arial, Courier, Helvetica, Symbol. Number the figures according to their sequence in the text. Use a logical naming convention for your artwork files. Provide all figures as separate files. Produce images near to the desired size of the printed version. Ensure that all units and wording in the figures conform to TVJ style (see Units above). Please note that each figure must be uploaded to the journal website separately and not included in the main manuscript.

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.

- Submit each illustration as a separate file.

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

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, 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 all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

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 online (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 online only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Tables

Each Table should be typed on a separate page, numbered (1, 2 etc.) and a brief title given directly above each table. Tables should be in portrait format. Footnotes to tables should be indicated by a, b etc. and typed at the bottom of the relevant table. Information in tables should not be duplicated in figures and vice versa. The tables should be placed at the end of the main text after the References but before the Figure Legends.

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.

Websites

Where a website is appropriate in the text, a footnote should be inserted using sequential numeric superscripts. At the foot of the page, provide the link as follows: '1See: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>.' It is the Authors' responsibility to check that all URLs are active and live at proof stage and if not then the text must be amended accordingly.

Reference management software

Most Elsevier journals have a standard template available in key reference management packages. This covers packages using the Citation Style Language, such as Mendeley (<http://www.mendeley.com/features/reference-manager>) and also others like EndNote (<http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>) and Reference Manager (<http://refman.com/downloads/styles>). Using plug-ins to word processing packages which are available from the above sites, 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 as described in this Guide. The process of including templates in these packages

is constantly ongoing. If the journal you are looking for does not have a template available yet, please see the list of sample references and citations provided in this Guide to help you format these according to the journal style.

If you manage your research with Mendeley Desktop, you can easily install the reference style for this journal by clicking the link below:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/the-veterinary-journal>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plugins for Microsoft Word or LibreOffice. For more information about the Citation Style Language, visit <http://citationstyles.org>.

Reference style

Authors are strongly advised to use reference management software such as EndNote ([see here](#)). However, references should be checked carefully for accuracy and corrected manually to ensure the format matches exactly the TVJ style described below.

Only essential references should be included. Text citations can be in either of two ways: (a) with date in parentheses, e.g. as demonstrated by Mills (2011); or (b) with names and dates in parentheses, e.g. according to recent findings (Mills, 2011). If a citation has more than two Authors the first Author should be given followed by et al. in standard text format (not italicised), e.g. Jones et al. (2007) or (Jones et al., 2007). Where lists of references are cited in the text, they should be placed first chronologically and then alphabetically, e.g. (Philbey et al., 2003; Cassidy and Mills, 2005; Litster, 2010). If two or more references by the same Author(s) published in the same year are cited, they should be distinguished from each other by placing a, b, etc. after the year, e.g., (Laven, 2011a, b; Laven and Smith, 2010a, b). Personal communications should be designated as '(E.A. Blomme, personal communication)'.

Papers that are in press may be cited using the year of acceptance where the digital object identifier (doi number) has been allocated. This can be updated to the year of print publication at the proof stage if the cited paper has been published. In the Reference list, quote the doi number where details of the journal volume and page numbers are yet not known.

Submitted papers should not be cited, but instead should be referred to in the text as, e.g. 'J.P. Cassidy et al., unpublished data'. This can be updated at proof stage where appropriate. Where a paper in press is cited in the manuscript, the Authors may be asked to make a copy of the proofs available to the editors and reviewers.

The Reference list at the end of the paper should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. References should be single spaced and a line break should be inserted between each reference. All Authors should be included up to 10, after which you should write 'et al.'; Please note that in all cases Journal titles must be given in full. Volume numbers and full page numbers should be provided, but issue numbers should be omitted. Where a Supplement is cited, give the Supplement number e.g. 'Equine Veterinary Journal Suppl. 37' or 'Journal of Reproduction and Fertility 54 (Suppl. 1), 115-126'. Where selected pages only have been consulted, such as in a book, this is given by 'pp. 237-240' or 'p. 456' (see below).

References should be set out as follows:

Journal reference - Yang, Y., Dahly-Vernon, A.J., Blomme, E.A.G., Lai-Zhang, J., Kempf, D.J., Marsh, K.C., Harrington, Y.A., Nye, S.H., Evans, D.L., Roman, R.J. et al., 2010. Liver transcriptomic changes associated with ritonavir-induced hyperlipidemia in sensitive and resistant strains of rats. *The Veterinary Journal* 185, 75-82.

Book reference - Cunningham, J.C., Klein, B.G., 2007. Endocrinology. In: *Textbook of Veterinary Physiology*, Fourth Ed. Saunders Elsevier, St. Louis, MO, USA, pp. 439-448.

Proceedings - Elbers, A.R., Mintiens, K., Staubach, C., Gerbier, G., Meiswinkel, R., Hendrinckx, G., Backx, A., Conraths, F.J., Meroc, E., Ducheyne, E., et al., 2007. Bluetongue virus serotype 8 epidemic in North-western Europe in 2006: Preliminary findings. In: *Proceedings of the Annual Meeting of the Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine*, Dipoli, Finland, pp. 231-245.

Theses - Duz, M. 2009. Assessment of a methodology for determination of H₂O₂ concentration and pH in exhaled breath condensate in horses with and without lower airway inflammation. Thesis, Master of Veterinary Medicine, University of Glasgow.

Web addresses - FAOSTAT, 2008. Food and Agricultural Organization Statistical Database: Live Animals. <http://faostat.fao.org> (accessed 15 July 2010).

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations: <http://www.issn.org/services/online-services/access-to-the-ltwa/>.

Supplementary material

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution 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 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>.

Where Supplementary data are provided (see further information below), use the following wording in the main text after the Acknowledgements:

Appendix: Supplementary material

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi: ...'

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

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'
- References are in the correct format for this journal
- 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 Internet)

Printed version of figures (if applicable) in color or black-and-white

- Indicate clearly whether or not color or black-and-white in print is required.

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.

Proofs

One set of page proofs (as PDF files) will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post) or, a link will be provided in the e-mail so that authors can download the files themselves. Elsevier now provides authors with PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 9 (or higher) available free from <http://get.adobe.com/reader>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs (also given online). The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/reader/tech-specs.html>.

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return them to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. 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.

Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a personalized link providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](http://www.sciencedirect.com). This link can also be used for sharing via email and social networks. 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>). 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/booklets>).

AUTHOR INQUIRIES

You can track your submitted article at <http://www.elsevier.com/track-submission>. You can track your accepted article at <http://www.elsevier.com/trackarticle>. You are also welcome to contact Customer Support via <http://support.elsevier.com>.

Appendix

Reporting Guidelines

Reporting guidelines are available for a broad range of study designs and allow research to be critically evaluated. These guidelines have been designed by international scientific teams to promote the quality of research reporting and to ensure there is a transparent, accurate and complete account of the research. The guidelines are freely available and include the following:

1. Standards for the reporting of diagnostic accuracy studies (STARD) <http://www.stard-statement.org>
2. Standards for the reporting of observational studies in epidemiology (STROBE) <http://www.strobe-statement.org>
3. Outbreak investigation reports and intervention studies of nosocomial infection (ORION) <http://www.idrn.org/orion.php>
4. Consolidated standards for reporting randomised clinical trials (CONSORT) <http://www.consort-statement.org>
5. Systematic reviews and meta-analyses (PRISMA) <http://www.prisma-statement.org>
6. Randomised control trials for livestock and food safety (REFLECT) <http://www.reflect-statement.org/statement>
7. Enhancing the quality and transparency of health research (including good publication practice for pharmaceutical companies), economic evaluations and qualitative research (EQUATOR) <http://www.equator-network.org>

For further information see *The Veterinary Journal* (2010) 184, 249-250 ([view article](#)).

© Copyright 2014 Elsevier | <http://www.elsevier.com>