

## BOTULISMO EM AVES NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO<sup>1</sup>

WILHELM BRADA<sup>2</sup>, JEROME LANGENEGGER<sup>3</sup> e CHARLOTTE HUBINGER LANGENEGGER<sup>4</sup>

### Síntese

Foram diagnosticados dez surtos de botulismo em pequenas criações de galinhas e patos mantidos soltos nos quintais de propriedades rurais do Estado do Rio de Janeiro.

A presença da toxina botulínica foi comprovada no soro sanguíneo das aves doentes e nas culturas do conteúdo do ingluvío, do intestino e do triturado do fígado. A toxina foi identificada, pelo teste da soro-proteção em camundongos, como sendo do tipo C, o que vem a ser a primeira confirmação do botulismo em aves no Brasil.

Os autores recomendam incluir nos exames de rotina, a pesquisa da toxina botulínica nos soros das aves doentes com sintomatologia de botulismo.

### INTRODUÇÃO

O botulismo é intoxicação específica, resultante da absorção, pela mucosa digestiva, da toxina produzida por *Clostridium botulinum*.

A doença foi descrita pela primeira vez, no homem, há mais de 200 anos, por médicos do sul da Alemanha e que designaram por botulismo a síndrome de paralisia flácida progressiva, dilatação pupilar, dificuldade de deglutir e de falar, e alta letalidade, freqüentemente observada em indivíduos após a ingestão de salsichas estragadas (*botulus* = salsicha). A etiologia desta doença foi descoberta por van Ermengen que isolou em 1894 *Clostridium botulinum* e obteve a toxina em culturas.

Hoje são conhecidos seis tipos toxicogênicos, os tipos A, B, C, D, E, e F.

Os esporos de *Cl. botulinum* são altamente resistentes e encontrados ubiqüitariamente no solo em várias partes do mundo. Podem desenvolver-se em vários substratos, desde que haja anaerobiose e temperatura adequada, como por exemplo: nos cadáveres, em poças ou lagoas com água estagnada e material orgânico, em conservas enlatadas, e também em depósitos de alimentos, em latões ou barris, onde as

formas vegetativas produzem a toxina altamente letífera.

O botulismo das aves foi descrito pela primeira vez nos Estados Unidos, por Dickson (1917), que demonstrou ser a síndrome conhecida por "limberneck" (pescoço flácido), causado pela intoxicação botulínica. Posteriormente a doença foi diagnosticada em muitas espécies, em diferentes países, e oriunda de várias fontes de infecção, predominando o tipo C, como mostra o Quadro 1.

Os sintomas do botulismo em aves aparecem desde algumas horas até um a dois dias depois da ingestão da toxina.

Nos casos graves, sobressai a paralisia flácida da musculatura das pernas, asas e pescoço. As aves não conseguem andar mais, permanecem prostradas com as asas caídas e com o pescoço e cabeça deitados no chão. Apresentam-se sonolentas com as pálpebras semicerradas e plumagem arrepiada, sendo que as penas se destacam facilmente. Não têm febre, recusam alimentos, entram em estado comatoso e morrem dentro de horas. Em casos mais leves, manifestam apenas paresia dos membros, instabilidade ao moverem-se e sonolência. Estas podem recuperar-se e freqüentemente a recuperação se dá ao fim de 3 a 4 dias.

A necrópsia não revela lesões dignas de nota. Às vezes se encontram larvas de moscas no ingluvío e na moela e o conteúdo do trato digestivo superior emana cheiro desagradável (Biester & Schwarze 1959).

O diagnóstico se baseia na sintomatologia e na comprovação da presença da toxina botulínica no con-

<sup>1</sup> Recebido 18 mai. 1970, aceito 15 jun. 1970.

<sup>2</sup> Biologista do Setor de Ornitopatologia do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS), Km 47, Rio de Janeiro, GB. ZC-26. Bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq. 10.744/68).

<sup>3</sup> Veterinário do Setor de Microbiologia do IPEACS e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq. 7.115/68).

<sup>4</sup> Veterinário do Setor de Microbiologia do IPEACS, bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq. 10.751/68).

QUADRO 1. Aspectos epizootiológicos dos surtos de botulismo em aves

Espécies de aves	Aves que morreram	Fonte de intoxicação	Tipo da toxina	Local e/ou país	Referências
Galinhas	4 surtos (± 100)	Dulcificados de milho, vagem e abriú	?	Califórnia, U.S.A.	Dickson (1917)
	643	Conserva estragada de vagem	?	Califórnia, U.S.A.	Hart (1920)
	70	Resto de comida do restaurante	A	Illinois, U.S.A.	Graham e Schwarze (1921)
	Muitas	Cadáveres de aves e larvas de môsca	? (excluídos A e B)	Indiana, U.S.A.	Doyle (1923)
	104	?	C	Illinois, U.S.A.	Graham e Boughton (1923)
	Muitos	Ração dos frangos	A	Buenos Aires, Argentina	Fagonde e Sardi (1967)
Patos	36	Acesso a área alagada com vegetais em decomposição	C	Western, Austrália	Gardiner (1967)
	68	Cabeça de suíno fervida que ficou no meio ambiente	C	Vitória, Austrália	Pullar (1933)
	Alguns	Conserva estragada de ervilha	?	França	Dadot (1945)
	170	Lagoa artificial com água estagnada	?	Uruguai	Szyfres et al. (1948)
Gansos	10	Restos de cozinha	?	Inglaterra	Cunning (1950)
	30	Cadáveres de ratos	D ?	França	Rossi e Berujon (1950)
	13	Resto de cozinha	?	Pretória, África do Sul Inglaterra	Martinaglia (1937) Cunning (1950)
Faisões	218	Carcça de coelho com larvas de <i>Calliphora</i> e <i>Lucilia</i>	C	Suécia	Dinter e Kull (1954)
	8.000			Nova York, U.S.A.	Cheatum et al. (1957)
	10.000	Carcças de faisões e larvas de môscas?	C	Wisconsin, U.S.A.	Vadlamudi et al. (1959)
	4.000	Larvas de môsca ( <i>Lucilia illustris</i> )	C	Wisconsin, U.S.A.	Lee et al. (1962)
		Carcça e larvas de môsca?	C (alfa)	Ilha Nicholson, Canadá	Fish et al. (1967)
Perus	Mais de 100	Poças de água estagnada	C	U.S.A.	Coburn e Quertrup (1938)
Avestrus	Alguns	Restos de carcças, fragmentos de osso	?	Pretória, África do Sul	Theiler (1927)
Aves aquáticas e/ou silvestres	18	Poça d'água no jardim zoológico de Pretória	C	Pretória, África do Sul	Robinson (1929)
	Grande mortandade	Lago com matéria orgânica, água alcalina	C	Califórnia, U.S.A.	Giltner e Couch (1930)
	Altamortandade	Idem, em vários lagos	C	U.S.A.	Gunnison e Coleman (1932)
		Idem, em vários lagos	C	U.S.A.	Gunnison e Coleman (1932)
	Mais de 8.000	Idem, em lago	C	Utah, U.S.A.	Kalmbach e Gunderson (1934)
	Muitos	Pântano com lodo e limo, vegetais podres	C	Vitória, Austrália	Pullar (1934)
	130	Área alagada, em época quente	?	New South Wales, Austrália	Rose (1934)
	Milhares	Lago com águas paradas, período quente	C	Alberta, Canadá	Shaw e Simpson (1936)
	Muitos	Lago com vegetais em decomposição	?	Austrália	Farleigh (1949)
		Terreno alagado com carcças de aves	C (alfa)	Austrália	Grubb (1964)
5.000	Lago?	E	Michigan, U.S.A.	Kaufmann e Fay (1964)	
1.500	Poças de água em parques	C	Malmö, Suécia	Nilehn e Johansen (1965)	
1.000	Lagoas?	C	Dinamarca	Müller (1967)	

teúdo do tubo digestivo e/ou nos alimentos suspeitos, mediante a inoculação de filtrados em animais de experimentação. Segundo Quortrup e Sudheimer (1943), a toxina botulínica se encontra em grande concentração no sangue de patos selvagens doentes, sendo assim possível usar o soro deles para inoculação em camundongos e reprodução do botulismo nestes animais.

O teste da soro-proteção permite reconhecer o tipo da toxina botulínica. As aves são resistentes para o tipo B (Graham & Schwarze 1921).

Na literatura brasileira Reis e Nobrega (1956) e Bueno *et al.* (1962) fazem referência ao botulismo em aves, registrando sete casos em galinhas, diagnosticados clinicamente no período de 1930 a 1960, no Instituto Biológico de São Paulo.

Tivemos oportunidade de diagnosticar dez surtos de botulismo em galinhas e patos domésticos. No presente trabalho será relatada a identificação da doença, o que constitui a primeira confirmação do botulismo em aves no Brasil.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Procedência das aves*

As aves examinadas eram oriundas de pequenas criações de galinhas e patos domésticos, mantidos soltos em torno das residências. Procediam dos municípios vizinhos do nosso Instituto<sup>5</sup>, no Estado do Rio de Janeiro.

### *Exames clínico e anátomo-patológico*

Constavam, estes exames, de anamnese, exame clínico, necrópsia das aves mortas ou doentes e coleta de material para as pesquisas complementares. Era puncionada a maior quantidade possível de sangue. O conteúdo do ingluvío e do intestino e o fígado eram colhidos para exame bacteriológico; o muco traqueal, o baço e o encéfalo eram coletados para exame virológico.

### *Pesquisa de toxina botulínica no soro sanguíneo das aves*

A presença de toxina foi comprovada pela inoculação do soro das aves doentes em camundongos. O soro era inoculado em grupos de 3 ou 4 camundongos, por via intraperitoneal, nas doses de 0,5 e 0,25 ml. Um grupo foi injetado com o soro *in natura*, outro grupo com soro inativado a 56°C durante 30 minutos e um terceiro grupo foi inoculado com as mesmas doses de soro de galinha normal.

### *Obtenção de culturas com toxina botulínica*

Culturas do conteúdo do ingluvío e do intestino e de triturado de fígado, em caldo de Wright (1933), após aquecimento a 70-75°C, durante uma hora, foram incubadas a 37°C durante 5 dias. No filtrado destas em Seitz era evidenciada a toxina botulínica pela inoculação, intraperitoneal, em camundongos, também nas doses de 0,5 e 0,25 ml. O caldo de Wright foi assim preparado:

Carne moída de bovino	500 g
Água destilada	1.000 ml
Fosfato monopotássico (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	1,4 g
Fosfato dissódico (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	0,9 g
Peptona marca Difco	11,0 g

A mistura foi fervida durante 90 minutos e o pH acertado para 7,4-7,6. As partículas de carne foram separadas e colocadas em tubos de ensaio, tamanho 20 x 200, até a altura de 3 cm. Aos mesmos tubos foi adicionado posteriormente o caldo até atingir a altura de 9 cm. Depois de autoclavados, durante uma hora a 121°C, foram acrescidos, a cada tubo, 1 ml de solução a 10% de dextrose e 1 ml de soro de equino.

### *Teste de soro-proteção*

Nos últimos três surtos de botulismo (372/69, 11/70 e 53/70), foi possível realizar o teste da soro-proteção com soros anti-botulínicos dos tipos C e D, gentilmente cedidos pelo Instituto de Pesquisas Veterinárias de Onderstepoort, África do Sul. Constituiu na imunização passiva de grupos de 3 ou de 4 camundongos com os soros tipos C e D, administrados por via intraperitoneal, na dose de 0,25 ml, e, 3 horas depois, a inoculação do material suspeito: soro sanguíneo das aves doentes e filtrado das culturas do conteúdo do ingluvío e do intestino e do triturado do fígado. Este foi aplicado por via subcutânea na dose de 0,25 ml.

## RESULTADOS

A anamnese foi muito semelhante em todos os surtos. Os proprietários eram surpreendidos, de um dia para outro, com o achado de várias aves mortas e/ou doentes. Em nenhum caso pôde ser elucidada a fonte de contágio. Tudo indicava tratar-se de cadáveres de outras aves ou de animais silvestres nos casos em que foram encontradas larvas de mosca no ingluvío. Em outros, a fonte da toxina poderia ser oriunda de poças de água com lama, pois várias galinhas apresentavam os metatarsos enlameados. A mortalidade era variada.

<sup>5</sup> Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS), situado no município de Itaguaí.

O exame clínico das 23 aves trazidas ao laboratório revelou sintomas de paresia e paralisia dos membros, das asas e do pescoço. Nos casos menos evoluídos, os animais tinham dificuldade de andar e de ficar de pé. Permaneciam prostados, com as pálpebras semicerradas, mas respondiam espontaneamente a estímulos sensoriais. Não apresentavam febre, mas também não se alimentavam. Nos casos mais graves, notava-se que as penas se desprendiam facilmente. A evolução da doença variava de poucas horas a 3 dias. A morte era precedida por coma, mais ou menos longo. Algumas aves, com sintomas leves como sonolência e dificuldade de andar, sobreviveram, recuperando-se rapidamente depois de 3 a 4 dias de enfermias.

O exame anátomo-patológico não revelou lesões dignas de nota. A presença de larvas de môsca e o odor pútrido do conteúdo do inglúvio eram sugestivos para a intoxicação botulínica.

A comprovação da toxina botulínica no sôro sanguíneo das aves doentes foi feita por inoculação em camundongos, em confronto com o mesmo sôro inativado e sôro de galinha normal, como mostra o Quadro 2.

A tipificação da toxina botulínica pôde ser feita nos últimos três surtos, por meio do teste de sôro-proteção. A toxina foi identificada como sendo do tipo C, presente no sôro sanguíneo das aves doentes, como demonstra o Quadro 3.

Nas culturas em caldo de Wright, semeadas com material do conteúdo do inglúvio, do intestino e do triturado do fígado, desenvolveu-se *Clostridium botulinum*, produzindo toxina em alta concentração. A toxina também foi identificada como sendo do tipo C, por meio do teste da sôro-proteção em camundongos, segundo mostra o Quadro 4.

QUADRO 2. Resultado da comprovação da toxina botulínica no sôro sanguíneo das aves doentes pela inoculação em camundongos

Registro n.º	N.º de aves examinadas	Sôro suspeito (uão aquecido)			Sôro suspeito (inativado)*			Sôro de aves normais		
		N.º de camundongos	Dose inoculada (ml)	Resultado	N.º de camundongos	Dose inoculada (ml)	Resultado	N.º de camundongos	Dose inoculada (ml)	Resultado
95/62	4 gal.	4	0,25	mortos	4	0,25	vivos	4	0,25	vivos
99/66	1 gal.	3	0,25	mortos	3	0,25	vivos	3	0,25	vivos
176/66	3 gal.	4	0,25	mortos	4	0,25	vivos	4	0,25	vivos
294/66	2 gal. 2 patos	4	0,25	mortos	4	0,25	vivos	4	0,25	vivos
344/66	1 gal.	3	0,25	mortos	3	0,25	vivos	3	0,25	vivos
344/68	2 gal.	4	0,25	mortos	4	0,25	vivos	4	0,25	vivos
17/69	1 gal. 1 pato	4	0,25	mortos	4	0,25	vivos	4	0,25	vivos

\* O sôro suspeito foi inativado a 50°C, durante 30 minutos.

QUADRO 3. Resultados do teste da sôro-proteção. Tipificação do sôro das aves doentes

Registro n.º	N.º de aves examinadas	N.º de camundongos	Sôros antibotulínicos x toxina do sôro de aves doentes						Testemunhas		
			Sôro C (ml)	Toxina suspeita (ml)	Resultado	Sôro D (ml)	Toxina suspeita (ml)	Resultado	N.º de camundongos	Toxina suspeita (ml)	Resultado
372/69	2 gal.	3	0,25	0,25	vivos	0,25	0,25	mortos	3	0,25	mortos
11/70	2 gal.	3	0,25	0,25	vivos	0,25	0,25	mortos	3	0,25	mortos
53/70	2 gal.	3	0,25	0,25	vivos	0,25	0,25	mortos	3	0,25	mortos

QUADRO 4. Resultado do teste da soro-proteção. Tipagem da toxina obtida em culturas

Registro n.º	Culturas de órgãos	N.º de camundongos	Sêros antibotulínico x toxina de filtrado de culturas						Testemunhas		
			Sêro C (ml)	Toxina suspeita (ml)	Resultado	Sêro D (ml)	Toxina suspeita (ml)	Resultado	N.º de camundongos	Toxina suspeita (ml)	Resultado
372/69	Inglúvio	4	0,25	0,25	vivos	0,25	0,25	mortos	4	0,25	mortos
	Intestino	4	0,25	0,25	vivos	0,25	0,25	mortos	4	0,25	mortos
	Fígado	4	0,25	0,25	vivos	0,25	0,25	mortos	4	0,25	mortos
11/70	Inglúvio	4	0,25	0,25	vivos	0,25	0,25	mortos	4	0,25	mortos
	Intestino	4	0,25	0,25	vivos	0,25	0,25	mortos	4	0,25	mortos
	Fígado	4	0,25	0,25	vivos	0,25	0,25	mortos	4	0,25	mortos
53/70	Inglúvio	4	0,25	0,25	vivos	0,25	0,25	mortos	4	0,25	mortos
	Intestino	4	0,25	0,25	vivos	0,25	0,25	mortos	4	0,25	mortos
	Fígado	4	0,25	0,25	vivos	0,25	0,25	mortos	4	0,25	mortos

## DISCUSSÃO

A ocorrência de botulismo em aves, segundo mostram as nossas observações, parece ser mais frequente entre nós do que se admitia. Na literatura brasileira, excluindo os casos clínicos referidos por Reis e Nobrega (1956) e por Bueno *et al.* (1962), diagnosticados no Instituto Biológico de São Paulo entre 1930 e 1960, não há referências sobre esta doença no Brasil.

No período entre 1954 e 1961, tivemos oportunidade de suspeitar intoxicações, semelhantes ao botulismo, em 15 casos. Foi comprovado quimicamente que três destes eram causados por envenenamento por arsênico e dois casos provocados por intoxicação por DDT (confirmado também por teste biológico com mósas). Dez casos não foram etiológicamente esclarecidos, embora o quadro clínico e a anamnese nos levassem a suspeitar de botulismo. Os novos casos que surgiram, a partir de então, foram examinados visando o diagnóstico de botulismo.

Nos primeiros experimentos comprovamos a presença, no sêro das aves doentes, de uma substância tóxica capaz de matar camundongos em poucas horas. O mesmo sêro, quando aquecido a 56°C, durante 30 minutos e injetado na mesma quantidade, não matava mais os camundongos. Este fato, aliado ao histórico e ao resultado do exame clínico e anátomo-patológico, levou-nos à conclusão de que se tratava de toxina botulínica. Com este procedimento não foi possível a tipagem sorológica.

Com a obtenção dos soros antibotulínicos tipos C e D, conseguimos comprovar, nos três últimos surtos, tratar-se de botulismo e reconhecer o tipo C como responsável pela doença em nosso meio. Foi

possível demonstrar a toxina botulínica no sêro das aves doentes e nas culturas do conteúdo do inglúvio e do intestino, bem como nas de triturado de fígado.

A demonstração da toxina botulínica no sêro das aves permite diagnosticar o botulismo em menos de 24 horas, enquanto, nas culturas, a obtenção de toxina requer pelo menos 4 dias.

A confirmação do diagnóstico, apenas pela demonstração da toxina nas culturas, ou mesmo, o isolamento de *Clostridium botulinum* seria pouco prudente, pois o esporo pode ser encontrado ocasionalmente no tubo digestivo. A obtenção da toxina de culturas do fígado já tem maior valor diagnóstico. A demonstração da toxina no sangue e sua tipagem, juntamente com a anamnese, sintomas e lesões confirmam seguramente o diagnóstico.

Além dos dez surtos de botulismo apresentados neste trabalho, queremos salientar que outras afecções, clinicamente muito semelhantes ao botulismo, exigem diagnóstico diferencial cuidadoso. Registramos, em um caso, quadro clínico de intoxicação botulínica em patinhos, cujo diagnóstico revelou empachamento do inglúvio com alimento fibroso e infestação maciça por *Capillaria* sp.; em outra oportunidade, uma galinha de 4 anos de idade, apresentando sintomatologia de botulismo, era apenas portadora de intensa infestação por cestódios.

O botulismo das aves assumiu aspectos epizootológicos muito interessantes quando Kalmbach (1930) e Giltner e Couch (1930) demonstraram que as grandes mortandades de aves aquáticas silvestres, da região ocidental dos Estados Unidos, eram causadas por botulismo. Surtos semelhantes foram descritos no Canadá por Shaw e Simpson (1930) e na Aus-

trália por Pullar (1934), Rose (1934) Farleigh (1949), e por Nilehn e Johannsen (1965) e Müller (1967) nos países nórdicos. Verificou-se que a fonte de intoxicação era a água de lagos, lagoas e pântanos com água estagnada e rica em matéria orgânica, como folhas e vegetação, em decomposição, durante períodos de grandes estiagens e temperaturas quentes. Nestas circunstâncias, criam-se condições de anaerobiose que permitem o desenvolvimento de *Cl. botulinum* e a produção da toxina pelas formas vegetativas.

Entre as aves domésticas, o botulismo assume caráter mais enzoótico ou apenas se constitui em surtos esporádicos. Os surtos por nós observados irromperam esporadicamente em propriedades rurais, e ao que tudo indica, a fonte de infecção deve ser atribuída à ingestão de cadáveres, de diversas espécies, ou o acesso a poças d'água contaminadas.

#### REFERÊNCIAS

- Biester, H.E. & Schwarze, L.H. 1959. Enfermedades de las aves. Union Tipográfica Editorial Hispano-Americana, México, p. 359-364.
- Bueno, R.C. Baquer, S.R. & Nakano, M. 1962. Doenças de aves em São Paulo. Análise de 28.147 casos. Arqs Inst. biol. S. Paulo 29:231-270.
- Cheatum, E.L., Reilly, J.R. & Fordham Jr., S.C. 1937. Botulism in game pheasants. Trans. 22nd Nord. Am. Wildlife Conf., p. 170-179.
- Cobun, D.R. & Quortrup, E.R. 1938. Atypical botulism in turkeys. J. Am. vet. med. Ass. 93:385-387.
- Dadot, F. 1945. Botulisme des canards. Recl Méd. vét. 121:177-180.
- Dickson, E.C. 1917. Botulism. A cause of limber-neck in chickens. J. Am. vet. med. Ass. 50:612-613.
- Dinter, Z. & Kull, K.E. 1954. "Über ein Ausbruch des Botulismus bei Fasanenkikern. Nord. VetMed. 6:866-872.
- Doyle, L.P. 1923. Limberneck in chickens. J. Am. vet. med. Ass. 63:754-758.
- Fagonde, A.P. & Sardi, H.E. 1967. Botulismo aviar, primer caso comprobado en la República Argentina. Bull. Off. int. Epizoot. 67:1479-1491.
- Farleigh, E.A. 1949. Botulism in wild birds. Yb. Inst. Insp. Stk., N. S. Wales, p. 101-102.
- Fish, N.A., Nitchell, W.R. & Barnum, D.A. 1967. A report of a natural outbreak of botulism in pheasants. Can. vet. J. 8:10-16.
- Gardiner, M.R. 1967. Clostridial infection in poultry in Western Australia. Aust. vet. J. 43:359-360.
- Giltner, L.T. & Couch, J.F. 1930. Western duck sickness and botulism. Science 72:660.
- Graham, R. & Boughton, I.B. 1923. *Clostridium botulinum* type C as associated with limberneck-like disease in chickens and ducks. J. Am. vet. med. Ass. 64:723-727.
- Graham, R. & Schwarze, H. 1921. Avian botulism (type A) or limber-neck. J. Infect. Dis. 28:317-322.
- Grubb, W.B. 1964. Avian botulism in Western Australia. Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 42:17-26.
- Gunnin, O.V. 1950. Losses in geese, ducks and poultry, caused by a toxin in the gut contents which resembled the toxin produced by the anaerobe *C. botulinum*. Brit. vet. J. 106:81-82.
- Gunnison, J.B. & Coleman, G.E. 1932. *Clostridium botulinum* type C associated with Western duck disease. J. Infect. Dis. 51:542-551.
- Hart, G.H. 1920. Clinical and case reports. Botulism in chickens. J. Am. vet. med. Ass. 57:75-77.
- Kalmbach, E.R. 1930. Western duck sickness produced experimentally. Science 72:658-660.
- Kalmbach, E.R. & Gunderson, M.F. 1934. Western duck sickness. A form of botulism. U.S. Dep. Agric. Tech. Bull. n.º 411, p. 81.
- Kaufmann, O.W. & Fay, L.D. 1964. *Clostridium botulinum* type E toxin in tissues of dead loons and gulls. Quart. Bull. Mich. Agric. Exp. Stn 47:236-242.
- Lee, V.H., Vadlamudi, S. & Hanson, R.P. 1962. Blow fly larvae as a source of botulinum toxin for game farm pheasants. J. Wildl. Mgmt 26:411-413.
- Martinaglia, G. 1937. Some considerations regarding the health of wild animals in captivity. S. Afr. J. Sci. 33:833. (Citado por Biester & Schwarze 1959)
- Müller, J. 1967. (First outbreaks of botulism in wild ducks in Denmark). Medlemsbl. danske Dyrlægeforen 50:887-890. (Vet. Bull. 37, Abstr. 3012)
- Nilehn, P. O. & Johansen, A. 1965 (An outbreak of avian botulism). Nord. VetMed. 17:685-692.
- Pullar, E.M. 1933. Limberneck (botulism) in ducks. Aust. vet. J. 9:26-30.
- Pullar, E.M. 1934. Enzootic botulism amongst wild birds. Aust. vet. J. 10:128-135.
- Quortrup, E.R. & Sudheimer, R.L. 1943. Detection of botulism toxin in the blood stream of wild ducks. J. Am. vet. med. Ass. 102:264-266.
- Reis, J. & Nobrega, P. 1956. Tratado de doenças das aves. Vol. 2. Ed. Melhoramentos, São Paulo, p. 291-298.
- Robinson, E.M. 1929. Notes on a few outbreaks of botulism in domestic animals and birds. 15th Rep. Dir. vet. Serv., South Africa, Part I, p. 111.
- Rose, A.L. 1934. Enzootic botulism amongst wild birds. Aust. vet. J. 10:175-177.
- Rossi, P. & Berujon, J. 1950. Botulisme du canard, son traitement. Bull. Acad. vet. Fr. 23:365-369.
- Shaw, R.M. & Simpson, C.S. 1936. *Clostridium botulinum* type C in the relation to duck sickness in the Province of Alberta. J. Bact. 32:79-88.
- Szyfres, B., Trenchi, H. & Abaracon, D. 1948. Intoxication botulinique des canards. Bull. Off. int. Epizoot. 29:431-437.
- Theiler, A. 1927. Lamsiekte (parabotulism) in cattle in South Africa. 11-12th Rep. Dir. vet. Ed. Res., Dep. Agric. South Africa, Part II, p. 821-1361.
- Vadlamudi, S., Lee, V.H. & Hanson, R.P. 1959. Case report. Botulism type C outbreak on a pheasant game farm. Avian Dis. 3:344-350.
- Wright, H.D. 1933. The importance of adequate reduction of peptone in the preparation of media for pneumococcus and others organisms. J. Path. Bact. 38:257.

#### BOTULISM IN FOWLS IN THE STATE OF RIO DE JANEIRO

##### Abstract

The diagnosis of ten outbreaks of botulism in home flocks of chickens and ducks, ranging free in rural areas of the State of Rio de Janeiro, is described.

The presence of botulinic toxin was confirmed in the blood serum of sick fowls, and in cultures of crop and intestine contents and liver tissue. The toxin was identified as type C using the anti-toxin protection test in mice. This appears to be the first confirmed case of botulism in fowls in Brazil.

The authors recommend the use of the anti-toxin protection test in mice using serum of sick fowls, as a routine procedure in diagnostic work.