

## BOTULISMO ENZOÓTICO EM BÚFALOS NO MARANHÃO<sup>1</sup>

JEROME LANGENEGGER<sup>2</sup> e JÜRGEN DÖBEREINER<sup>2</sup>

**ABSTRACT.-** Langenegger J. & Döbereiner J. 1988. [Enzootic botulism of water buffaloes in Maranhão, Brazil.] Botulismo enzoótico em búfalos no Maranhão. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 8(1/2):37-42. Embrapa-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23851, Brazil.

A clinical diagnosis of enzootic botulism of water buffaloes and the characteristics of the probable predisposing conditions in the northern lowland region of the State of Maranhão are described. In this region buffaloes graze on lowland pastures together with cattle and horses during the dry season. Botulism occurred in approximately 10% of the buffaloes that existed in the area during the dry season at the end of the years 1978 and 1979. Affected buffaloes showed motor incoordination and flacid paresis, and the disease usually had a protracted course, generally leading to death. Initially, animals had difficulty walking, with the forelegs being more severely affected, resulting in the tips of the hooves being dragged along the ground. These buffaloes also experienced difficulties lying down and getting up. As the disease progressed, the animals remained lying down in either the sternal-abdominal position or on their sides, depending on the intensity of the flacid muscular paresis. However, psychic reflexes remained normal. There were no gross post-mortem lesions or histopathological changes in one buffalo necropsied, which could reveal the nature of the clinical signs. It has been speculated that the numerous stagnant water holes existing in the area in which the buffaloes wallow and drink during the dry season, contain the botulinus toxin responsible for the outbreaks. Cattle and horses, reared together with the buffaloes, do not utilize these water holes and have not been seen to develop clinical signs. Because of technical difficulties, no attempt was made to demonstrate the presence of the botulinus toxin in either the affected animals or the water holes.

**INDEX TERMS:** Botulism, buffaloes, enzootic outbreak, clinical diagnosis.

**SINOPSE.-** Foi descrito o diagnóstico clínico de botulismo enzoótico de búfalos e caracterizadas as condições ecológicas predisponentes, na baixada maranhense, no norte do Estado do Maranhão. Nesta região são mantidos, coletivamente, durante o período de estiagem, búfalos, bovinos e eqüídeos. O botulismo ocorreu, em aproximadamente 10% dos búfalos, durante o período seco, no final dos anos de 1978 e 1979, e caracterizou-se por incoordenação motora com paresia flácida e lenta evolução para a morte da maioria dos animais. Os sintomas clínicos incipientes externavam-se por certos distúrbios da locomoção, principalmente na movimentação dos membros anteriores e a flexão da articulação carpal, assim que as pinças roçavam o solo ao andar. Os animais afetados mostravam insegurança ao deitar e tinham dificuldade ao se levantar. Com a evolução da doença, os búfalos doentes permaneciam deitados, em decúbito esterno-abdominal ou lateral dependendo da intensidade da paresia flácida da musculatura de relação, porém os reflexos psíquicos ainda estavam normais. Búfalos doentes não conseguiam sair da água. Os achados de necropsia não revelaram lesões macro e microscópicas que justificassem o quadro clínico. A fonte de contágio de botulismo foi atribuída às inúmeras poças d'água estagnadas que se formavam, anualmente, durante o período de estiagem e nas quais os búfalos se banhavam. Ao contrário, os bovinos e eqüinos que, não se utilizando desta água estagnada, não morreram. Por dificuldades técnicas não pôde ser comprovada a presença da toxina botulínica.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Botulismo, búfalos, surto enzoótico, diagnóstico clínico.

### INTRODUÇÃO

O botulismo dos animais apresenta-se sob forma enzoótica ou epizoótica, em várias partes do mundo, em decorrência de condições ecológicas especiais. Estas, direta ou indiretamente, criam fatores circunstanciais que desencadeiam o surto da doença. No caso de botulismo dos bovinos criados extensivamente em pastagens carentes de fósforo, o fator predisponente é a deficiência deste mineral no solo que leva os animais ao curioso hábito de roerem ossos de cadáveres como meio de suprir a falta de fósforo do organismo. Esta carência se acentua nas vacas em gestação e em lactação. Por outro lado, sabe-se que o esporo de *Clostridium botulinum* é encontrado ubiqüitariamente em todos os continentes e se mantém no solo, mesmo em pequenas concentrações, por muitos anos. Com os alimentos, o esporo passa, em geral, inofensivamente pelo tubo digestivo do animal vivo, mas em qualquer cadáver encontra condições de desenvolver-se e produzir toxinas porque a flora aeróbica do tubo digestivo consome o oxigênio e cria a necessária anaerobiose no interior do cadáver recoberto pelo couro. Ossos, cartilagens, tendões e aponevroses que resistem à decomposição do cadáver ficam impregnados com a toxina e ricamente contaminados pelos esporos. Nesta circunstância, o bovino, ao ingerir fragmentos de tecidos ou roendo ossos, é vítima da toxina botulínica e o novo cadáver se torna tóxico porque também havia ingerido, com a toxina, os esporos, estabelecendo assim a cadeia epidemiológica. Esta forma de botulismo epizoótico do bovino já foi descrita na África

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 14 de outubro de 1987.

<sup>2</sup> Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesquisa em Saúde Animal, Embrapa, 23851 Seropédica, Rio de Janeiro.

do Sul (Theiler 1902), na Austrália (Seddon 1922), no Texas, Estados Unidos da América (Schmidt 1916), na Turquia (Pamukcu 1954) e no Senegal, África (Calvet et al. 1965).

No Brasil, o botulismo epizootico dos bovinos foi registrado no Estado do Piauí (Tokarnia et al. 1970), no cerrado do Brasil-Central (Langenegger & Döbereiner 1980, Langenegger et al. 1983), em Goiás e na Ilha de Marajó (Moreira 1980) e no Rio Grande do Sul (Langenegger et al. 1984, Turnes et al. 1984).

O botulismo epizootico das aves aquáticas silvestres tem sua origem relacionada com prolongadas estiagens, em épocas quentes e em regiões alagadas, onde estas aves vivem e se alimentam da água e dos produtos aquáticos. Estas condições ecológicas adversas provocam a redução da circulação e o empocamento d'água em locais restritos. Estas águas paradas concentram maior quantidade de matéria orgânica que, quando auxiliado pela alta temperatura, facilmente se decompõe. Na água estagnada a oxigenação se reduz e, além disso, a flora aeróbia do lodo, no fundo das poças, consumindo oxigênio, criam condições anaeróbias a ponto de permitir que esporos de *Clostridium botulinum*, ali presentes, passem a se desenvolver e produzirem toxinas e, assim, esta água estagnada se constitui em fonte de intoxicação botulínica. Grandes mortandades de aves aquáticas silvestres causadas por esta forma epizootica de botulismo já foram assinaladas na região ocidental dos Estados Unidos (Giltner & Couch 1930, Gunnison & Coleman 1932, Kalmbach & Gundersen 1934), em Michigan, EUA (Kaufmann & Fay 1964), no Canadá (Shaw & Simpson 1930), na Austrália (Pullar 1934, Rose 1934, Farleigh 1949, Grubb 1964), nos países Nórdicos (Nilehn & Johansen 1965), na Inglaterra (Blandford et al. 1969), na Holanda (Haagsma et al. 1971), na Nova Zelândia (Martinovich et al. 1972) e na África do Sul (Hay et al. 1973). No Brasil foram comprovados casos esporádicos de botulismo em aves por Brada et al. (1971), Saraiva (1978) e por Schonhofen & Garcia (1981).

Na literatura por nós compulsada não foi encontrada nenhuma referência sobre casos esporádicos nem de formas epizooticas de botulismo em búfalos.

## DESCRIÇÃO DO SURTO DE BOTULISMO EM BÚFALOS

### Local e fatores predisponentes

Nos municípios de Pinheiros e São Bento, no norte do Estado do Maranhão, próximo ao litoral, há uma grande área plana, também designada por baixada maranhense que pode ser considerada o estuário do Rio Pinheiros. Esta planície permanece parcialmente coberta por água durante os meses de fevereiro a setembro, época das chuvas. A lâmina d'água, na maioria desta área alagada, não atinge um metro de altura. Isto permite que a gramínea nativa "capim marreca" (*Parathia prostrata*) se desenvolva dentro d'água, proporcionando excelente forragem para a criação de búfalos ali iniciada há vários anos. No período de outubro a dezembro, às vezes até janeiro, anualmente, com falta de chuvas em toda a região norte do Estado, a longa estiagem provoca gradual baixa das águas e a transformação da baixada numa pastagem firme e verde,

mas ainda permanecem, entremeadas, centenas de poças d'água (Fig. 1 e 2). Enquanto isto, as áreas vizinhas, mais elevadas já estão secas e com falta d'água. Os bovinos e eqüinos dos fazendeiros ali existentes, convergem para a planície e se misturam com os, aproximadamente, 500 búfalos que também pertencem a vários proprietários e então vivem coletivamente na área, formando um grande rebanho com mais de 1.000 animais. A medida que a estiagem se acentua, muitas poças secam, outras tem reduzida a sua quantidade d'água agora estagnada, poluída, embora na parte central da baixada, acumulam-se maiores volumes d'água, no suposto antigo leito do Rio Pinheiros. Chamou a atenção de que os búfalos se banham no lodo das poças quase secas e nas com água estagnada das quais os bovinos e eqüinos não se aproximam para beber água, provavelmente pelo aspecto e mau cheiro.

### Histórico da doença dos búfalos

Segundo o relato dos criadores, a doença dos búfalos é observada desde fins de 1976, ao final de uma grande estiagem e sua incidência estaria aumentando cada ano mais. Ela aparece no final do mês de novembro, mas a maioria dos animais adocece e morre no mês de dezembro e ainda no mês de janeiro se as chuvas retardam. Onde há campos relativamente mais secos a incidência da doença é maior e onde tem mais água não existe o problema. Calcula-se que cerca de 10% dos búfalos tenham morrido em 1978 e 1979. Por outro lado, teria sido insignificante o número de mortes entre bovinos e eqüinos durante a estada destes na baixada. Segundo os proprietários, os búfalos mostram andar estranho, ficam deitados, costumam levantar-se e quase todos morrem.

### Sintomas dos búfalos

Foram examinados 12 búfalos doentes, sendo seis com sintomas incipientes. Dois deles chamaram a atenção porque ficaram afastados do lote que se deslocava naturalmente; andavam alguns passos e paravam sem motivo aparente. Vistos de perto notou-se certa incoordenação no andar, mormente, ao locomover os membros anteriores. Notava-se, nitidamente, que a articulação carpal era pouco flexionada e com isto as pinças dos cascos roçavam o solo em quase cada passo (Fig. 3). Os dois búfalos acompanhavam, com acentuada movimentação lateral da cabeça, a passagem do peso do corpo de um membro anterior para outro, quando executavam passos. Estavam em bom estado nutricional e psiquicamente normais.

Uma búfala foi encontrada em decúbito esterno-abdominal e não conseguia manter a cabeça levantada. A anamnese mostrou que já estava doente há 12 dias e deitada há 5 dias. O animal ainda movimentava um pouco os membros e a cabeça ao tentar se levantar. Não conseguiu mais repor naturalmente a língua quando exteriorizada (Fig. 4). Os reflexos sensitivos, aparentemente, estavam bem, pois o animal acompanhava as pessoas com o olhar e espantava as moscas movimentando as pálpebras. Não tinha febre e o estado de nutrição era regular. Este animal foi sacrificado para realização de necropsia.

Uma garrota búfala foi encontrada em decúbito esterno-abdominal, aparentemente sadia. Forçada a levantar-se, ela permanecia e andava sobre a articulação carpal, tanto assim que já tinha acentuadas escaras nos dois car-



1



2



3

Fig. 1. A baixada maranhense, no município de Pinheiros, permanece parcialmente coberta por água durante os meses de fevereiro a setembro, época das chuvas.

Fig. 3. Búfalo doente, com incoordenação no andar.



4

Fig. 2. No período de estiagem, outubro/janeiro, formam-se na baixada centenas de poças d'água, onde os búfalos se banham.

Fig. 4. Uma búfala, em decúbito esternal, não conseguiu mais re-  
por a língua quando esteriorizada.

pos. A anamnese revelou que este animal adoecerá há 28 dias, tendo como sintomas certa dificuldade de andar e por isto ficava quase sempre deitado. Movido pela fome começou a procurar pasto andando sobre os carpos. O dono passou a alimentá-lo e por isto estava em boas condições nutricionais.

Outra búfala foi encontrada em decúbito esterno-abdominal; ela se alimentava nesta posição do capim em volta sem se levantar.

Outros 3 búfalos foram encontrados numa pequena lagoa boiando tranqüilamente (Fig. 5). Os proprietários informaram que os animais estão doentes e não conseguem andar, por isto estão sendo tratados (alimentados) neste "hospital". Dois dos búfalos foram retirados da água. Um deles, que tinha adoecido um mês e meio atrás, andou com passos lentos, parando várias vezes, mas voltando logo á água (Fig. 6 e 7). O outro animal, doente há mais de três semanas, apesar de bom estado de nutrição, não conseguiu levantar-se mais, apresentando paresia da cauda e dos membros (Fig. 8 a 10).

Uma búfala que adoecera aproximadamente há 5 semanas atrás, foi vista em recuperação, andando ainda com dificuldade, de dorso arqueado e com os membros posteriores postos para frente, embaixo do ventre, como para tirar o peso dos membros anteriores (Fig. 11 e 12).

#### Achados de necropsia

Foi necropsiada a búfala, doente há 12 dias e deitada há 5 dias, em decúbito lateral, que, além das escaras de decúbito, não revelou alterações macroscópicas que pudessem afastar o diagnóstico de botulismo. A boa contestura óssea das costelas e a gravidez da búfala, com um feto de aproximadamente 2 meses, não deixavam suspeitar carência crônica de fósforo. Os exames dos esfregaços de sangue puderam afastar uma possível infecção por *Trypanossoma*. A raiva também foi excluída através do teste biológico em animais de laboratório. Os preparados histológicos dos órgãos revelaram, no entanto, acentuada hemossiderose que pode ser atribuída a deficiência de cobre, mas que não justifica o quadro clínico.



5



6



7



8



9



10

Fig. 5. Três búfalos doentes, boiando numa pequena lagoa onde estão sendo alimentados.

Fig. 7. O animal mostrado na Fig. 6 tenta voltar logo à água.

Fig. 9 O animal da Fig. 8 mostra paralisia dos membros.

Fig. 6. Um dos búfalos tirados da água, ainda conseguiu andar com dificuldade.

Fig. 8. Outro búfalo, doente há mais de 3 semanas, tirado da água, não conseguiu levantar-se mais, apesar do bom estado de nutrição.

Fig. 10 O animal das Fig. 8 e 9 mostra, além de paralisia da cauda, escaras na pele, adquiridas antes de entrar na água ("hospital").



Fig. 11. *Búfala que adoeceu há 5 meses atrás, está em recuperação, andando ainda com dificuldade.*

As necropsias de alguns búfalos dos cerca de 50 animais que morreram, também não revelaram achado dignos de nota, segundo informações dos médicos veterinários do Serviço de Defesa Sanitária Animal do Estado do Maranhão.

#### Diagnóstico

O conjunto dos dados disponíveis permite firmar o diagnóstico de botulismo dos búfalos e, como provável fonte de intoxicação foi considerada a água estagnada das poças da área alagada.

#### DISCUSSÃO

As evidências epizootiológicas mostraram que a longa estiagem e o clima quente da região anteriormente alagada, desencadearam o surto de botulismo dos búfalos, porque estes animais têm o costume e a necessidade de banhar-se em qualquer água empoçada ou lama, ocasião em que também, eventualmente, bebem desta água, mormente numa área seca. A utilização de inúmeras poças d'água ou de lama destas foi comprovada. Os búfalos, ao entrarem e se banharem nas poças, removem a água e o lodo do fundo onde se pode desenvolver *Clostridium botulinum* com produção de toxina botulínica. Mesmo que os búfalos não bebam água destas poças, a intoxicação é possível pela absorção da pele e das mucosas oral, nasal, prepucial ou vaginal, mesmo se for por doses subletais, desde que múltiplas, como demonstraram Loftsgard et al. (1970).

A presença em número aproximadamente igual, de bovinos e eqüinos, na mesma área, durante o período da estiagem, sem que estes adoecessem com sintomas de botulismo, também indica que a fonte de intoxicação foi a água estagnada das poças, porque os bovinos e eqüinos evitam entrar em lodaçais e recusam beber água com material em decomposição.

O surto de botulismo dos búfalos na baixada maranhense teve sua origem em condições ecológicas adversas semelhantes às que ocorrem com o botulismo epizootico das aves aquáticas e silvestres, como foi visto na introdu-

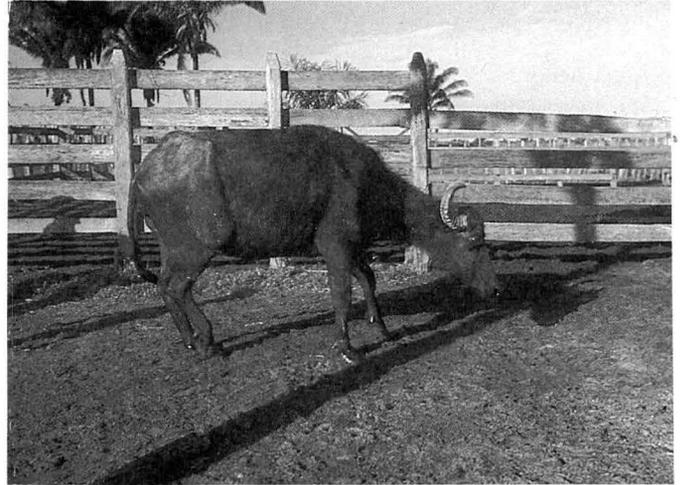


Fig. 12. *O animal da Fig. 11, em recuperação, anda com os membros posteriores postos para frente, para aliviar o peso dos dianteiros.*

ção do presente trabalho. A fonte de intoxicação do botulismo do búfalo difere da do botulismo epizootico dos bovinos cuja causa primária é a afosforose e que não foi observada nos búfalos da baixada em Pinheiros. Na literatura há, menções, assinalando a água como fonte de intoxicação botulínica esporádica de bovinos. Pamukcu (1954) na Turquia, ao descrever casos de botulismo em bovinos, menciona que a doença parece ser mais prevalente quando a água é baixa e estagnada. Doutré (1969) faz referência a mortes de eqüinos, asininos, bovinos e ovinos por botulismo após beberem água de uma fonte contaminada com cadáver de gato em decomposição e em outra com o de um esquilo, demonstrando a presença de toxina na água.

No surto de botulismo dos búfalos não foi demonstrado a presença de toxina, por dificuldades técnicas. Os búfalos encontrados doentes apresentavam quadros de intoxicações leves com longos períodos de evolução da doença e nestes casos a presença de toxina botulínica no soro sanguíneo ou no conteúdo do tubo digestivo, não é detectável salvo com métodos especiais de extração e concentração (Sonnenschein & Bisping 1976) não disponíveis em nosso laboratório. A pesquisa da toxina, na água das inúmeras poças existentes seria um método indireto de comprovar a causa do botulismo dos búfalos. Este trabalho não foi tentado pelas seguintes razões: a) o número de poças na região era muito grande e isto só permitiria examinar uma amostragem, e se o resultado desta fosse negativo, não excluiria de que numa ou noutra poça, mesmo já dissecada, houvesse a presença de toxina; b) como a evolução da doença dos búfalos era lenta, indicando intoxicação com pequena quantidade de toxina, era de se supor que a quantidade de toxina presente nas poças também fosse pouca, o que também dificultaria a sua detecção pelo método biológico através da inoculação em animais de laboratório; c) a execução de exames das amostras d'água no local era impossível e a coleta e transportes para São Luiz ou Rio de Janeiro também seria por demais problemática, considerando-se a reduzida possibilidade de ser demonstrada a presença de toxina botulínica.

Como a provável fonte de intoxicação botulínica era a água estagnada, foi recomendada a vacinação de todos búfalos, anualmente, no início da estiagem, ou seja, no mês de setembro, com uma revacinação 6 a 8 semanas após, nos animais primovacinações. Esta imunoterapia preveniu satisfatoriamente a ocorrência do botulismo até 1987.

Passados 10 anos, por ocasião da forte estiagem de 1987/88, verificou-se o recrudescimento da mortandade de búfalos na baixada maranhense, cujos quadros clínicos registrados em reportagem televisivada fizeram lembrar os do botulismo.

## REFERÊNCIAS

- Blandford T.B., Roberts T.A. & Ashton W.L.G. 1969. Losses from botulism in mallard duck and other water fowl. *Vet. Rec.* 85:541-543.
- Brada W., Langenegger J. & Langenegger C.H. 1971. Botulismo em aves no Estado do Rio de Janeiro. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.* 6:27-32.
- Calvet H., Picart P., Doutre M.P. & Chambron J. 1965. Aphasphorose et botulisme au Sénégal. *Revue Elev. Méd. Vét. Pays Trop.* 18:249-282.
- Doutre M.P. 1969. Incidence of animal botulism contracted from water in Sénégal. *Revue Elev Méd. Vét. Pays Trop.* 22:29-31.
- Farleigh E.A. 1949. Botulism in wild birds. *Yb. Inst. Insp. Stk. N.S. Wales*, p. 101-102.
- Giltner L.T. & Couch J.F. 1930. Western duck sickness and botulism. *Science* 72:660.
- Grubb W.B. 1964. Avian botulism in Western Australia. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 42:17-26.
- Gunnison J.B. & Coleman G.E. 1932. *Clostridium botulinum* type C associated with Western duck disease. *J. Infect. Dis.* 51:542-551.
- Hay M.E., Made H.N. & Knoetze P.C. 1973. Isolations of *Clostridium botulinum* type C from an outbreak of botulism in wild geese. *J.S. Afr. Vet. Med. Ass.* 44:53-56.
- Haagsma J., Over H.J., Smit T. & Hoekstra J. 1971. Botulism in waterfowl in 1970 in the Netherlands. *Tijdschr. Diergeneesk.* 96:1072-1094.
- Kalmbach E.R. 1930. Western duck sickness produced experimentally. *Science* 72:658-660.
- 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.
- Langenegger J. & Döbereiner J. 1980. Fatores predisponentes dos surtos de botulismo no cerrado de Goiás. *Anais 17º Congr. Bras. Med. Vet., Fortaleza*, p. 16.
- Langenegger J., Döbereiner J. & Tokarnia C.H. 1983. Botulismo epizootico em bovinos no Brasil. *Agroquímica Ciba-Geigy, São Paulo*, (20):22-26.
- Langenegger J., Scarsi R.M., Martins E.S., Azambuja L.L.A., Helena P.A.S. & Barros C.L. 1984. Mal de Alegrete: epidemiologia, clínica e patologia. *Anais 19º Congr. Bras. Med. Vet., Belém*, p. 208.
- Loftsgard G., Yndestad M. & Helgebostad A. 1970. Cumulative effect of repeated doses of *Clostridium botulinum* toxin in mice and mink. *Canad. Vet. J.* 11:227-231.
- Martinovich M., Carter E., Woodhouse D.A. & McCausland I.P. 1972. An outbreak of botulism in wild waterfowl in New Zealand. *N.Z. Vet. J.* 20:61-65.
- Moreira E.C., Lima J.D. & Leite R.C. 1980. Botulismo no Sul de Goiás e Marajó. *Anais XVII Congr. Bras. Med. Vet., Fortaleza*, p. 24.
- Nilehn P.O. & Johansen A. 1965. An outbreak of avian botulism. *Nord. Vet. Med.* 17:685-692.
- Pullar E.M. 1934. Enzootic botulism amongst wild birds. *Aust. Vet. J.* 10:128-135.
- Pamucku A.M. 1954. Hemorrhagic encephalomyelitis due to botulism in cattle in Turkey. *Zentralbl. Vet. Med.* 1:707-722.
- Rose A.L. 1934. Enzootic botulism amongst wild birds. *Aust. Vet. J.* 10:175-177.
- Saraiva D. 1978. Botulismo do tipo C em galinhas no Rio Grande do Sul. *Revta Centro Ciênc. Rurais, Sta. Maria*, 8(2):153-159.
- Schmidt H.A. 1916. Loin disease of cattle in the costal plains of Texas. *Texas Agric. Exp. Stn Annual Report*.
- Schonhofen C.A. & Garcia R.G.F. 1981. Ocorrência de botulismo em *Netta peposaca* (pato selvagem) e *Dencrocygna viaducta* (irerê). *Arqs. Biol. Tecnol., Curitiba*, 24(4):433-435.
- Seddon H.R. 1922. Bulbar paralysis in cattle due to a toxigenic bacillus. *J. Comp. Pathol. Therap.* 35:147-190.
- Shaw R.M. & Simpson G.S. 1936. *Clostridium botulinum* type C in the relation to duck sickness in the province of Alberta. *J. Bacteriol.* 32:79-88.
- Sonnenschein B. & Bisping W. 1976. Extraktion und Anreicherung von *Clostridium botulinum*-Toxinen aus dem Untersuchungsmaterial. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkunde Infektionskr. Abt. 1, Orig. Reihe A*, 234:247-259.
- Theiler A. 1920. The cause and prevention of lamsiekte. *J. Dep. Agric. South Africa* 1:221-224.
- Tokarnia C.H., Langenegger J., Langenegger C.H. & Carvalho E.V. 1970. Botulismo em bovinos no Piauí, Brasil. *Pesq. Agropec. Bras.* 5:465-472.
- Turnes C.G., Langenegger J. & Scarsi R.M. 1984. "Mal de Alegrete": evidências de *Clostridium botulinum* D como agente etiológico. *Anais 19º Congr. Bras. Med. Vet., Belém*, p. 138.