

## Intoxicação experimental em ovinos com *Ramaria flavo-brunnescens* congelada ou dessecada<sup>1</sup>

Eliza S.V. Sallis<sup>2\*</sup>, Margarida B. Raffi<sup>2</sup> e Franklin Riet-Correa<sup>3</sup>

**ABSTRACT.** Sallis E.S.V., Raffi M.B. & Riet-Correa F. 2004. [Experimental poisoning in sheep with frozen or dried *Ramaria flavo-brunnescens*.] Intoxicação experimental em ovinos com *Ramaria flavo-brunnescens* congelada ou dessecada. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 24(2):107-110. Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário, Cx. Postal 354, Pelotas, RS 96010-900, Brazil. E-mail: esvsallis@yahoo.com.br

*Ramaria flavo-brunnescens* is a toxic mushroom affecting cattle and sheep. Its active principle is unknown. The experiment was done to obtain information about the toxicity of the mushroom after been frozen or dried. *R. flavo-brunnescens* was collected in autumn 1991. One part was frozen at -15°C for 2-4 months, and another was dried in the shade. Other samples collected at the same time were given immediately after harvest to two sheep, at a total dose of 200 g/kg for 3 and 4 days, causing severe poisoning. The dried mushroom did not cause clinical signs at doses of 60 and 75 g/kg bw (equivalent to 400 and 500 g/kg of the fresh mushroom). The frozen mushroom at 200 g/kg bw caused hyperthermia, depression, hyperemia of the sclera and hemorrhages of the anterior chamber of the eye. Sheep that ingested 350 and 400 g/kg bw showed also nervous signs, and with the highest dose hyperemic lesions of the coronary band. All sheep recovered within 3 to 12 days. Clinical signs when given the frozen mushroom were less severe than clinical signs induced by the fresh mushroom. These results showed loss of toxicity of the dried material and decrease of toxicity of the frozen mushroom. It is suggested that chemical analyses for the toxic principle can be performed with the frozen or lyophilized mushroom.

INDEX TERMS: Poisonous plants, toxic mushroom, *Ramaria flavo-brunnescens*, sheep.

**RESUMO.** *Ramaria flavo-brunnescens* é um cogumelo tóxico para bovinos e ovinos. Seu princípio ativo é desconhecido. Este experimento foi realizado para obter informações sobre a toxicidade do cogumelo após congelamento ou dessecação. *R. flavo-brunnescens* foi coletada no outono de 1991. Uma parte foi congelada a -15°C por 2-4 meses e a outra foi secada à sombra, em temperatura ambiente. Outras amostras coletadas no mesmo período foram administradas imediatamente após a coleta a dois ovinos na dose total de 200 g/kg/dia durante 3 e 4 dias causando sinais clínicos acentuados de intoxicação. O cogumelo dessecado não causou sinais clínicos em ovinos nas doses totais de 60 e 75 g/kg de peso vivo (equivalente a 400 e 500 g/kg de cogumelo

fresco). O cogumelo congelado, na dose total de 200 g/kg de peso vivo, causou hipertermia, depressão, hiperemia da esclera e hemorragias na câmara anterior do olho. Ovinos que ingeriram 350 e 400 g/kg de peso vivo, apresentaram também sinais nervosos e, com a dose mais elevada, lesões hiperêmicas no rodete coronário. Todos animais recuperaram-se em 3 a 12 dias. Os sinais clínicos nessa espécie com o cogumelo congelado, foram menos intensos que os sinais clínicos induzidos pelo cogumelo fresco. Estes resultados demonstram uma perda da toxicidade do cogumelo dessecado e uma diminuição da toxicidade quando congelado. Isto sugere que as pesquisas sobre o princípio ativo de *Ramaria flavo-brunnescens* podem ser realizadas com o cogumelo congelado ou liofilizado.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, cogumelo tóxico, *Ramaria flavo-brunnescens*, ovinos.

### INTRODUÇÃO

A intoxicação espontânea por *Ramaria flavo-brunnescens* tem sido descrita nas regiões Sul e Sudeste no Brasil (Bauer et al. 1966, Paschoal et al. 1983), no Uruguai (Freitas et al. 1966, Quiñones-

<sup>1</sup> Recebido em 30 de março de 2004.

Aceito para publicação em 20 de abril de 2004.

<sup>2</sup> Campus Universitário, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Cx. Postal 354, Pelotas, RS, 96010-900. \* Autor para correspondência. E-mail: esvsallis@yahoo.com.br

<sup>3</sup> Faculdade de Veterinária, Universidade Federal da Paraíba, Campus VII, Patos, PB 58700-000.

Sowerby 1973) e na Argentina (Perusia & Rodriguez 1992) em bovinos e ovinos que pastam em locais com bosques de eucalipto (*Eucalyptus* spp), nos meses de fevereiro a junho. Esse cogumelo, pertencente à família Clavariaceae, é similar a uma couve-flor, alaranjado e/ou marrom-claro e se apresenta em colônias, coincidindo seu período vegetativo com a ocorrência de intoxicação espontânea (Fidalgo & Fidalgo 1970).

A intoxicação espontânea e experimental em bovinos é caracterizada clinicamente por emagrecimento progressivo, anorexia, intensa salivação, atrofia das papilas e descamação do epitélio da língua, hemorragias na câmara anterior do globo ocular e desprendimento dos cascos, chifres e dos pêlos do dorso, lombo e cauda (Bauer et al. 1966, Freitas et al. 1966, Quiñones-Sowerby 1973, Santos et al. 1975, Riet-Correa et al. 1985, Kommers & Santos 1995). Podem ser observadas, também, lesões de fotossensibilização (Riet-Correa et al. 1985). Experimentalmente, em bovinos, doses de 5 g/kg/dia durante 5 dias, produzem sinais clínicos e doses de 20 g/kg/dia durante 18 dias, provocam a morte (Santos et al. 1975, Kommers & Santos 1995).

A intoxicação espontânea em ovinos caracteriza-se por sinais nervosos, com incoordenação motora, midríase acentuada, decúbito e movimentos de pedalagem. Verificam-se, também, opacidade da córnea e sialorréia (Prucoli & Camargo 1965/66, Freitas et al. 1966). Sallis et al. (2000) reproduziram experimentalmente a intoxicação em 11 ovinos, administrando *R. flavo-brunnescens* fresca, nas doses totais de 100 a 430 g/kg. Seis ovinos demonstraram sinais clínicos e quatro morreram; a dose tóxica mínima total foi de 150 g/kg e doses de 200 g/kg causaram a morte dos ovinos. Os sinais clínicos foram similares aos da intoxicação espontânea; adicionalmente foram observados poliúria e hipertermia.

As principais lesões histológicas causadas por *R. flavo-brunnescens* caracterizam-se por vasoconstrição, trombose das artérias da derme e submucosa da língua, e degeneração e necrose epitelial. A semelhança dessas lesões com as lesões observadas no ergotismo sugerem que o princípio tóxico do cogumelo tivesse uma ação biológica semelhante a dos ergocalcólides (Sallis et al. 2000). Um alcalóide volátil e termolábil foi isolado de *R. flavo-brunnescens* e do fígado de um bovino intoxicado experimentalmente com o cogumelo (Bauer et al. 1966). No entanto, não foi demonstrado que esse alcalóide seja responsável pelo quadro clínico. Considerando a rapidez com que o cogumelo se decompõe após a colheita, é necessário determinar a toxicidade do mesmo após secagem ou congelamento para futuros trabalhos de identificação do princípio ativo. Este trabalho teve como objetivo determinar a toxicidade de *R. flavo-brunnescens* congelada ou dessecada para ovinos.

## MATERIAL E MÉTODOS

O cogumelo *Ramaria flavo-brunnescens* (Fig. 1) foi colhido nos meses de abril a maio de 1991, em locais com bosques de eucaliptos no sul do Rio Grande do Sul. Para a reprodução experimental da intoxicação foi utilizado *R. flavo-brunnescens*, congelada ou dessecada. O cogumelo foi mantido em congelador a 15°C negativos e administrado aos ovinos nos meses de junho a agosto. A secagem de *R. flavo-brunnescens* foi realizada à sombra, em temperatura ambiente, durante 7 a 10 dias, nos meses de abril e maio, sendo que na dessecagem o cogumelo



Fig. 1. Cogumelo *Ramaria flavo-brunnescens* (Clavariaceae). Município de Capão do Leão, RS.

fresco perdeu 20% a 25% de seu peso. Tanto os cogumelos que foram secados quanto os que foram congelados foram coletados, no ano de 1991, no mesmo local e simultaneamente com amostras de cogumelo que foram utilizadas imediatamente após a colheita para a reprodução experimental da enfermidade (Sallis et al. 2000). As amostras ministradas imediatamente após a colheita resultaram tóxicas na dose de 200 g/kg; administradas a dois ovinos em 3 e 4 dias, os animais apresentaram sinais clínicos acentuados e foram sacrificados *in extremis* após 8 dias do início do experimento.

Foram utilizados 11 ovinos, de ambos os sexos, com idades entre 8 meses e 7 anos, mantidos em regime de semi-confinamento. Dois desses animais foram utilizados como testemunhas. A forma de administração do cogumelo (congelado ou dessecado), as doses administradas e o período de administração constam do Quadro 1. Sete ovinos ingeriram o cogumelo que havia sido previamente congelado durante 2 a 4 meses, o qual era descongelado imediatamente antes de ser administrado aos animais, triturado com água em liquidificador de uso doméstico e administrado por via oral. Dois ovinos receberam *R. flavo-brunnescens* dessecada, misturada na ração; e quando rejeitada pelos ovinos, era administrada manualmente, por via oral.

Diariamente, desde um dia antes de iniciar a administração até 10 dias após o desaparecimento dos sinais clínicos, realizou-se exame clínico de todos os ovinos para determinação da temperatura retal, frequência respiratória, frequência cardíaca e dos movimentos ruminais.

## RESULTADOS

Dos sete ovinos que ingeriram o cogumelo previamente congelado, três manifestaram sinais clínicos seguidos por recuperação, e outros três apresentaram somente discreta hipertermia. Os ovinos que ingeriram *Ramaria flavo-brunnescens* dessecada não apresentaram sinais clínicos de intoxicação (Quadro 1).

**Ovinos 1, 2 e 3** que ingeriram *R. flavo-brunnescens* previamente congelada, nas doses totais de 100, 100 e 200 g/kg, em 2, 2 e 4 dias, respectivamente, apresentaram hipertermia (40,3 - 40,5 °C) a partir do 3º dia do experimento, que persistiu por um período de 3 a 5 dias. Não foram verificados outros sinais clínicos.

**Ovino 4**, que ingeriu 200 g/kg de *R. flavo-brunnescens* previamente congelada, em 4 dias, manifestou a partir do último dia de administração aumento de temperatura (40,4°C). Aos 7 dias do experimento observaram-se apatia, hipertermia (41,1 °C), secreção nasal sero-mucosa, conges-

**Quadro 1. Dados referentes à intoxicação experimental por *Ramaria flavo-brunnescens* em ovinos e evolução dos sinais clínicos**

Ovino n°	Peso (kg)	Consumo de Cogumelo	<i>Ramaria flavo-brunnescens</i>		Sinais clínicos		Evolução	
			Período de adm. (dias)	Dose total kg g/kg	Início (dias)	Duração		
1 <sup>b</sup>	19	Congelado	2	1,9	100	NA <sup>a</sup>	-	-
2 <sup>b</sup>	24,6	Congelado	2	2,46	100	NA	-	-
3 <sup>b</sup>	18,5	Congelado	4	3,7	200	NA	-	-
4	22	Congelado	4	4,4	200	4	7	Recuperou-se
5	17	Congelado	3	6,1	350	6	4	Recuperou-se
6	25	Congelado	7	10	400	NA	-	-
7	26	Congelado	13	11,6	450	4	9	Recuperou-se
8	25	Dessecado	6	1,5	60 <sup>c</sup>	NA	-	-
9	20	Dessecado	2	1,5	75 <sup>c</sup>	NA	-	-

<sup>a</sup>NA = não apresentou sinais clínicos.

<sup>b</sup>Ovinos 1, 2 e 3 apresentaram apenas hipertermia.

<sup>c</sup>60 e 75 gramas de *Ramaria flavo-brunnescens* dessecada corresponderam a 400 e 500 g/kg de cogumelo fresco, respectivamente.

tão da esclera e hemorragia da câmara anterior do olho. Os sinais clínicos persistiram por 6 dias até a recuperação completa do animal.

**Ovino 5**, que ingeriu *R. flavo-brunnescens* previamente congelada, na dose de 350 g/kg, em 3 dias, apresentou aos 6 dias do experimento sinais nervosos caracterizados por incoordenação motora, membros posteriores afastados e crises epiléptiformes, de aproximadamente um minuto de duração, com quedas para um dos lados, tetania, opistótono e nistagmo. O ovino recuperou-se completamente 4 dias após o início dos sinais clínicos.

**Ovino 7**, que ingeriu 450 g/kg de *R. flavo-brunnescens* previamente congelada, em 13 dias, apresentou no 4º dia do experimento tremores musculares, hipertermia (40,4 °C) e aumento da temperatura do casco. No 5º dia apresentou crises epiléptiformes, de aproximadamente 2 minutos de duração, caracterizadas por tetania, opistótono, movimentos laterais com a cabeça e nistagmo. Essas crises ocorriam quando o ovino era movimentado. Nos cascos das extremidades posteriores verificou-se a formação de uma linha hiperêmica, parcialmente coberta por uma crosta, na face anterior abaxial do rodete coronário e perioplo anterior. A esclera estava congesta. O animal apresentou sinais nervosos até o 12º dia. Entre o 8º e 12º dias houve regressão dos sinais nervosos e das lesões dos cascos. Nesse período o ovino apresentou opacidade da córnea, que também regrediu.

Não foram observados sinais clínicos no Ovino 6 que recebeu 400 g/kg, de cogumelo previamente congelado, em um período de 7 dias; e nos Ovinos 8 e 9 que ingeriram o cogumelo previamente dessecado, nas doses de 60 e 75 g/kg, durante 6 e 2 dias, que corresponderam a 400 e 500 g/kg de cogumelo fresco, respectivamente.

Os animais utilizados como testemunhas não apresentaram nenhum sinal clínico e não foram observadas lesões macroscópicas e microscópicas.

## DISCUSSÃO

Neste trabalho, a ingestão de *Ramaria flavo-brunnescens*, previamente congelada, causou em ovinos sinais nervosos, apatia, hipertermia, congestão da esclera, hemorragias na câmara anterior do globo ocular, opacidade da córnea e lesões do rodete coronário em um caso. As alterações foram similares aquelas observadas por Sallis et al. (2000) em experimento realizado com ovinos, utilizando *R. flavo-brunnescens* fresca coletada no mesmo ano e no mesmo local. No entanto, os sinais clínicos causados pelo cogumelo congelado foram relativamente bran-

dos. Na reprodução experimental com o cogumelo fresco os sinais clínicos foram mais graves e os dois ovinos que ingeriram uma dose total de 200 g/kg, durante 3 e 4 dias, foram sacrificados *in extremis*. O cogumelo fresco, na dose de 200 g/kg, além de sinais nervosos e oculares, causou ulcerações da língua e perda de lã. Esses resultados evidenciam uma perda da toxicidade após o congelamento. Considerando que essa perda não foi total, podemos concluir que é possível estudar o princípio ativo de *R. flavo-brunnescens* em amostras congeladas imediatamente após a colheita, ou em amostras liofilizadas. A administração do cogumelo dessecado, em altas doses, sem que causasse nenhum efeito tóxico demonstra a labilidade do mesmo após a dessecação. *R. flavo-brunnescens* é um fungo comestível, que também não apresenta toxicidade após o cozimento.

Alguns dos sinais clínicos e lesões observados na intoxicação por *R. flavo-brunnescens* em ovinos e bovinos, tais como a hipertermia e as lesões gangrenosas associadas à vasoconstricção periférica, são semelhantes as descritas no ergotismo, tanto da forma gangrenosa, quanto da síndrome distérmica (Méndez & Riet-Correa 2003). Os sinais nervosos observados em ovinos, mas não em bovinos, têm sido relatados também no ergotismo; no entanto, há dúvidas sobre a ocorrência dessa forma de ergotismo em animais domésticos. Devido a essa semelhança entre o ergotismo e a intoxicação por *R. flavo-brunnescens* foi sugerido que o princípio ativo do cogumelo fossem substâncias de ação semelhante a dos ergocalcoides; no entanto a labilidade do princípio ativo de *R. flavo-brunnescens* evidenciada neste trabalho não se observa nos ergocalcoides.

## REFERÊNCIAS

- Bauer A.G., Laranja R.J. & Santos A.G. 1966. Sobre a etiologia do chamado "Mal do Eucalipto". Arqs Inst. Pesq. Vet. Desidério Finamor, Porto Alegre, 3:85-90.
- Fidalgo O. & Fidalgo M.E.P.K. 1970. Poisonous *Ramaria* from Southern Brazil. Rickia, USA, 5:71-91.
- Freitas J., Pasturino C.L., Quiñones-Sowerby C.A., Bellagamba C., Giambruno E., Infanzozzi J.M., Décia W. & Cerveñanzky W. 1966. Comunicación sobre una enfermedad aparecida en ganados del Uruguay en los últimos

- años (Bocopa). 5º Congreso Panamericano de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Caracas, Venezuela, vol. 2, p.818-823.
- Kommers G.D. & Santos M.N. 1995. Experimental poisoning of cattle by mushroom *Ramaria flavo-brunnescens* (Clavariaceae): a study of the morphology and pathogenesis of lesions in hooves, tail, horns and tongue. *Vet. Human Toxicol.* 37(4):297-301.
- Méndez M.C. & Riet-Correa F. 2003. Intoxicações por plantas e micotoxinas, p.219-299. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Méndez M.C., Lemos R.A.A. (ed.) *Doenças de Ruminantes e Equinos*. Vol.2, Varela Editora, São Paulo, SP.
- Paschoal J.P., Portugal M.A.S.C. & Nazario W. 1983. Ocorrência do "mal do eucalipto" em bovinos no estado de São Paulo. *Arqs Inst. Biológico*, São Paulo, 49:15-18.
- Perusia O.R. & Rodriguez A R. 1992. *Plantas Tóxicas y Micotoxinas*. Esperanza, Santa Fé, Argentina. 94p.
- Prucoli O. & Camargo W.V.A. 1965/66. Intoxicação experimental em ovinos com *Clavaria* spp. *Bolm Ind. Animal*, Nova Odessa, 23:177-178.
- Quiñones-Sowerby C.A. 1973. Bocopa. *Bolsa del Libro de la Facultad de Veterinaria*, Montevideo. 13p.
- Riet-Correa F., Schild A.L., Méndez M.C., Brod C.S. & Ferreira J.L.M. 1985. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em bovinos. *Laboratório Regional de Diagnóstico. Doenças diagnosticadas no ano de 1984*. Editora Universitária, Pelotas, p.28-29.
- Sallis E.S.V., Riet-Correa F., Raffi M.B. & Méndez M.C. 2000. Experimental intoxication by the mushroom *Ramaria flavo-brunnescens* in sheep. *Vet. Human Toxicol.* 42(6):321-324.
- Santos M.N., Barros S.S. & Barros C.S.L. 1975. Intoxicação em bovinos pelo cogumelo *Ramaria flavo-brunnescens*. *Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet.* 10:105-109.