

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**INTOXICAÇÃO POR *Ramaria flavo-brunnescens*
(CLAVARIACEAE)**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Ricardo Rocha de Barros

**Santa Maria, RS, Brasil
2005**

**INTOXICAÇÃO POR *Ramaria flavo-brunnescens*
(CLAVARIACEAE)**

por

Ricardo Rocha de Barros

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária.**

Orientador: Prof. Luiz Francisco Irigoyen Conrado

**Santa Maria, RS, Brasil
2005**

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**INTOXICAÇÃO POR *Ramaria flavo-brunnescens*
(CLAVARIACEAE)**

elaborada por
Ricardo Rocha de Barros

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária

COMISSÃO EXAMINADORA:

Luiz Francisco Irigoyen Conrado, PhD
(Presidente/Orientador)

Ana Lucia Schild, Dr. (UFPEL)

Glauca Denise Kommers, PhD (UFSM)

Santa Maria, 20 de dezembro de 2005.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

INTOXICAÇÃO POR *Ramaria flavo-brunnescens* (CLAVARIACEAE)

AUTOR: Ricardo Rocha de Barros
ORIENTADOR: Luiz Francisco Irigoyen Conrado
Data e Local da Defesa: Santa Maria, 20 de dezembro de 2005.

Dois surtos de intoxicação pelo cogumelo *Ramaria flavo-brunnescens* são relatados em bovinos de duas fazendas localizadas nos municípios de Santa Maria e São Gabriel, no Rio Grande do Sul, no período de abril-maio de 2005. De um total de 180 bovinos de sobreano que tiveram acesso a bosques de eucaliptos, 19 adoeceram e 10 morreram. A evolução clínica foi de 8-15 dias e os sinais clínicos incluíam depressão, perda de peso, desidratação, salivação excessiva, afrouxamento e perda dos pêlos longos da cauda, alisamento da superfície dorsal da língua com ocasional ulceração, afrouxamento do estojo córneo dos chifres, fezes em forma de cíbalos e recobertas por película de muco, hipópion, hifema e opacidade da córnea. Dois novilhos tinham leucocitose devido a leve desvio regenerativo à esquerda. Os achados de necropsia confirmaram as observações clínicas e adicionalmente incluíam esofagite fibrinonecrótica, principalmente no terço distal do esôfago. Alterações histopatológicas na pele da cauda incluíam hiperqueratose ortoqueratótica, folículos pilosos com contornos irregulares, espessamento da camada de queratina tricolemal e formação ocasional de tampões de queratina; degeneração e necrose da bainha radicular externa também era observada. Nos cascos havia hemorragia, fibrina e infiltrado neutrofilico nas lâminas dérmicas, hiperplasia do topo das lâminas epidérmicas com queratinização irregular e retenção dos núcleos; várias lâminas epidérmicas estavam encurtadas e fundidas. Na mucosa da língua o epitélio de revestimento estava adelgado, com atrofia e perda das papilas filiformes e havia áreas multifocais de disqueratose e espongiose das células da camada basal. Em algumas porções havia perda do epitélio e a superfície da língua era formada por tecido de granulação e infiltrado inflamatório misto. A mucosa esofágica de seis novilhos apresentava vários graus de necrose epitelial e inflamação. A perda do epitélio de revestimento revelava uma área subjacente de tecido de granulação com marcado infiltrado inflamatório predominantemente neutrofilico e macrofágico. Em seis novilhos, o bulbo, na altura do óbex, apresentava áreas focais bilaterais e simétricas de malacia que afetava a substância branca e partes do núcleo dorsal do vago e do núcleo hipoglosso. Ultra-estruturalmente, os queratinócitos do epitélio da superfície dorsal da língua apresentavam diminuição do número de feixes de filamentos de citoqueratina. São discutidos a epidemiologia, os sinais clínicos, a patologia e a patogênese da intoxicação por *R. flavo-brunnescens* em bovinos. Adicionalmente um caso de intoxicação por *R. flavo-brunnescens* é relatado em equino.

Palavras-chave: intoxicação por cogumelo, *Ramaria flavo-brunnescens*, Clavariaceae, distúrbio da queratinização, encefalomalacia focal simétrica, doenças de bovinos, doenças de equinos, patologia.

ABSTRACT

MS Dissertation in Veterinary Medicine
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil

POISONING BY *Ramaria flavo-brunnescens* (CLAVARIACEAE)

AUTHOR: Ricardo Rocha de Barros
ADVISER: Luiz Francisco Irigoyen Conrado
Santa Maria, December 20, 2005

Two outbreaks of poisoning by the mushroom *Ramaria flavo-brunnescens* are reported in cattle from two farms located in the municipalities of Santa Maria and São Gabriel, state of Rio Grande do Sul, Brazil during April-May 2005. Out of a total of 180 yearling calves that had access to a pasture with eucalyptus woods, 19 were affected and 10 died. The clinical courses were 8-15 days and clinical signs included depression, weight loss, dehydration, drooling, loosening and loss of the long hairs of the tip of the tail, smoothening of the dorsal surface of the tongue with occasional ulceration, loosening of the corneal encasement of horns, hard and ball-shaped feces covered with a film of mucous, hypopion, hyphema and corneal opacity. Two calves had leucocytosis due to mild regenerative left shift. Nine calves were necropsied. Necropsy findings confirmed the clinical observation and additionally included fibrinonecrotic esophagitis, mainly in the distal third of the esophageal mucosa. Histopathological changes in the skin of the tail included orthokeratotic hyperkeratosis; hair follicles with irregular contours, and thickening of the tricolemmal keratin layer with occasional formation of keratin plugs, and degeneration and necrosis of the outer root sheath. At the laminar region of the hooves, there was hemorrhage, fibrin and neutrophilic infiltrate in the dermal laminae. hyperplasia of the top of epidermal laminae with irregular keratinization and retention of nuclei; several epidermal laminae were shortened and fused. In the mucosa of the tongue there was thinning of the covering epithelium, atrophy and loss of filiform papillae, multifocal areas of dyskeratosis, and spongiosis of the basal cell layer. In some parts the epithelium was lost and the surface consisted of granulation tissue and mixed inflammatory cell infiltrate. The esophageal mucosae of six calves had varying degree of epithelial necrosis and inflammation. The loss of the covering epithelium revealed an underneath area of granulation tissue with heavy inflammatory infiltrate composed predominantly of neutrophils and macrophages. In six calves there were focal symmetric bilateral areas of malacia observed at the level of obex in the medulla oblongata and affecting the white matter and parts of the dorsal nucleus of the vagus and of the hypoglossal nucleus. Ultrastructurally the keratinocytes of the dorsal epithelial surface of the tongue had decreased numbers of cytokeratin filament bundles. The epidemiology, clinical signs, pathology, and pathogenesis of poisoning by *R. flavo-brunnescens* in cattle are discussed. Additionally a case of *R. flavo-brunnescens* poisoning in a horse is described.

Keywords: poisoning by mushroom, *Ramaria flavo-brunnescens*, Clavariaceae, keratinization defect, focal symmetric encephalomalacia, diseases of cattle, diseases of horses, pathology.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em eqüino. **A.** Perda de pêlos da cauda. **B.** Maior aproximação de A.....47
- FIGURA 2 – Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em eqüino. Perda de pêlos das crinas.....48
- FIGURA 3 – Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em eqüino. Observa-se sulco circular no casco, próximo ao rodete coronário.....48
- FIGURA 4 – Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em eqüino. Aspecto radiológico, projeção lateromedial do membro torácico direito. Rotação da terceira falange, indicada pela imagem do córtex dorsal da terceira falange desalinhado com o aspecto dorsal da muralha do casco. Uma área radiopaca com largura aproximada de 2,5 cm aparece logo abaixo do rodete coronário.....49
- FIGURA 5 – Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em eqüino. Aspecto radiológico, projeção dorsoplantar do membro torácico direito. Observa-se uma banda radiopaca, que se estende de um talão ao outro, na altura do terço médio da muralha do casco. Essa lesão corresponde ao sulco em forma de círculo mostrado na Figura 3 e à área radiopaca mostrada na projeção lateromedial da Figura 4.....49
- FIGURA 6 – Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens*. **A.** Bovino controle mostrando a distribuição normal dos tonofilamentos nos queratinócitos da camada espinhosa do epitélio da língua. Observar a ausência de grânulos de querato-hialina. Barra = 2 μ m.....50

FIGURA 7 – Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens*. Bovino 2, intoxicado espontaneamente por *Ramaria flavo-brunnescens*. Observa-se diminuição dos tonofilamentos nos queratinócitos da camada espinhosa do epitélio da língua, dilatação dos espaços intercelulares e presença de acúmulos de um material finamente granular (seta). Observa-se também dilatação excêntrica da cisterna perinuclear (cabeça de seta). Barra = 2 μm50

SUMÁRIO

RESUMO.....	3
ABSTRACT.....	4
LISTA DE FIGURAS.....	5
1. INTRODUÇÃO.....	8
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	9
3. TRABALHO.....	20
4. DISCUSSÃO.....	44
5. CONCLUSÕES.....	51
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

1 INTRODUÇÃO

O cogumelo *Ramaria flavo-brunnescens*, da família Clavariaceae, cresce exclusivamente em solos de matos de eucaliptos e sua ingestão espontânea causa doença em bovinos (BAUER et al. 1966; SANTOS et al., 1975; PASCHOAL et al., 1983; KOMMERS & SANTOS, 1995), ovinos (RIET-CORREA et al., 1983) e, menos freqüentemente, búfalos (ROZZA et al., 2004) e eqüinos (GOMES, 1966; SANTOS et al., 1975; SANTOS, 1993). A enfermidade é relatada no Sul e Sudeste do Brasil, no Uruguai e na Argentina (TOKARNIA et al., 2000). O cogumelo *R. flavo-brunnescens* somente vegeta em matos de eucalipto de janeiro a junho, o que determinou o nome da enfermidade (“mal do eucalipto”) e sua ocorrência sazonal. No Uruguai, o acrônimo “bocopa” foi empregado para designar a doença, em razão das lesões ocorrerem a boca, cola e patas (FREITAS et al., 1966) e, na Argentina, a doença é conhecida como “mal de los eucaliptales” (ZURBRIGGEN et al., 1985).

Em 2005, dois surtos do mal do eucalipto foram diagnosticados pelo Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e um caso foi observado em eqüino. Apresentaremos aqui uma revisão da literatura sobre a intoxicação por *R. flavo-brunnescens* para introduzir o trabalho (Barros R.R., Irigoyen L.F., Kommers G.D., Rech R.R., Figuera R.A. & Barros C.S.L. 2006. Intoxicação por *R. flavo-brunnescens* (Clavariaceae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* [no prelo]) que descreve os aspectos epidemiológicos, clínicos e anatomopatológicos desses dois surtos espontâneos de intoxicação por *R. flavo-brunnescens* em bovinos, incluindo a descrição de lesões de necrose focal simétrica no tronco encefálico que não tinham ainda sido associadas à essa intoxicação. Adicionalmente serão descritos os aspectos ultra-estruturais das lesões epiteliais na língua de um bovino afetado e a descrição clínica sucinta do caso observado em eqüino.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A doença conhecida como “mal do eucalipto” é causada pela ingestão do cogumelo *Ramaria flavo-brunnescens*, que cresce em matos de eucaliptos e afeta principalmente bovinos e outras espécies animais. Embora estudada com maior rigor científico nos últimos trinta ou quarenta anos, é conhecida de longa data pelos homens do campo no Rio Grande do Sul, sendo impossível precisar desde quando, pois era registrada muitas vezes apenas pela comunicação oral.

Faremos uma revisão comentada da literatura sobre o mal do eucalipto, incluindo dados sobre sua epidemiologia, sinais clínicos, anatomia patológica e patogênese como forma de introduzir a descrição de dois surtos da doença, observados em bovinos no outono de 2005, nos municípios de Santa Maria e São Gabriel, Rio Grande do Sul. Os resultados obtidos do estudo desses dois surtos fazem parte desta Dissertação de Mestrado e foram enviados para publicação (Barros et al. 2006). O manuscrito desse trabalho é incluído após essa revisão. Esta revisão de literatura terá uma abordagem tipo *timeline* da doença e será comentada quando necessário.

É interessante reproduzir na íntegra uma das referências escritas mais antigas sobre o mal do eucalipto que conseguimos localizar. Ela faz parte do livro *Fundação e Evolução das Estâncias Serranas* (Gomes 1966) que, por sua vez, transcreve as observações do Dr. Nicanor Carlos Spreckelsen, veterinário de Tupanciretã, Rio Grande do Sul. O que aparece em itálico são inserções do autor.

Muitas e variadas opiniões temos ouvido e lido, a respeito da doença que acomete principalmente os bovinos, causando, às vezes, perdas elevadas e que se convencionou denominar “o mal dos eucaliptos” ou “doença dos eucaliptos”, dado o seu aparecimento sempre coincidir com a existência de capões de eucaliptos. Com o intuito de esclarecer o assunto foram consultados vários técnicos, inclusive estrangeiros, que têm emitido suas opiniões, por vezes discordantes, mas unânimes em reconhecer a não responsabilidade dos eucaliptos como causadores da doença. Em resposta a uma consulta formulada pelo Dr. Paulo Annes Gongalves, o Sr. C. W. Strutt, do Department of Primary Industry, do Governo da Austrália, informa que naquele país não se tem conhecimento de nenhuma espécie ou variedade de eucalipto, que cause os sintomas apontados e lembra a possibilidade de que o mal seja causado pelo envenenamento pelo “ergot”, fungo que ataca a semente do *Paspalum dilatatum*. Carências de minerais também são responsabilizadas pelo mal. Com o propósito de juntar a nossa colaboração a de todos aqueles que vêm se preocupando com a elucidação deste problema, cujo prejuízo já se faz sentir em diversos municípios, nalguns casos com perdas consideráveis, daremos à publicidade a opinião que formamos após a observação de vários casos da doença, inclusive a realização de diversas necropsias, cujos primeiros casos por nós atendidos têm registro no ano de 1955. Em virtude da confusão que se tem feito entre ambas as doenças, o “ergot” que nós conhecemos por ergotismo e “o mal dos eucaliptos”, procuraremos fazer uma descrição dos dois estados patológicos, de forma a dirimir, ao menos, o que existe de dúvida quanto à ocorrência de uma, ou de

duas enfermidades distintas (*segue-se uma descrição sob o título “mal dos eucaliptos”, “doença dos eucaliptos” ou “mal da cola”*). Há vários anos que se constata, em diversos municípios do nosso Estado, uma doença de bovinos, inicialmente denominada “mal da cola” e mais tarde chamada de “doença dos eucaliptos” ou “mal dos eucaliptos”. A denominação inicial de mal da cola, se deve ao fato de que, os animais atacados, perdem a vassoura da cauda, isto é, caem os pêlos longos. A coincidência do aparecimento do mal, com a existência de matos de eucaliptos, foi que lhe valeu a denominação de “mal dos eucaliptos”. Há aproximadamente 20 anos, verificamos casos da enfermidade em eqüinos, no município de Tupanciretã, quando os proprietários atribuíram-na ao fato dos animais terem os pêlos da cauda e crinas “roídos” por outros animais com o vício de ‘roer a cola’. Posteriormente, tomamos conhecimento da doença em casos isolados e em diversos pontos do município, até que, em 1955, fomos solicitados a verificar a *causa mortis* de bovinos pertencentes ao Sr. Franklin Laureano de Brum, que na ocasião perdeu oito bois, além dos que adoeceram apresentando vários estágios da doença e vários graus de intensidade, desde os casos mortais até os mais benignos. Inicialmente, o proprietário suspeitou de casos de febre aftosa, dada a semelhança dos sintomas no seu período inicial. Pela necropsia de animais vitimados, que efetuamos com o Dr. José Antonio U. Pereira Rego, suspeitamos de intoxicação, sem ser possível precisar o tóxico, afastando imediatamente a suspeita de febre aftosa levantada pelo proprietário. Mais tarde, estudando o caso com o Dr. Severo Sales de Barros, foi aventada a hipótese de se tratar de intoxicação por selênio, dada a constatação de lesões, ao que nos pareciam, tipicamente causadas por tal intoxicação. Foi verificada a coincidência do aparecimento da doença com a existência de capões de eucaliptos e o seu desaparecimento, quando os referidos capões eram cercados, tanto que esta prática foi por nós recomendada para criadores deste município (Tupanciretã), de Julio de Castilhos e de Cruz Alta. Esse detalhe se nos afigura importante. Somos daqueles, que, como o Eng. Agr. Armando Tochetto, acreditam que os “eucaliptos não têm culpa pela morte de gado bovino”, mas desconfiamos de sua cumplicidade. Após orientarmos as nossas suspeitas para a intoxicação pelo selênio, as providências tomadas foram as de: a) pesquisar a presença do tóxico em material colhido dos animais vitimados; b) efetuar o levantamento da flora agrostológica dos locais onde se verificou a ocorrência da doença; c) pesquisar a presença do tóxico no solo e plantas. Lamentavelmente, nada obtivemos da Diretoria da Produção animal, a quem recorremos naquela ocasião. Consultando o Dr. Severo Corrêa de Barros, engenheiro de minas, fomos informados que o solo dessa região não apresenta aspecto selenífero, a não ser que o metalóide se encontre em camadas profundas, o que vem corroborar com a nossa suspeita de cumplicidade do eucalipto. Reconhecemos e apregoamos mesmo, que o laboratório deveria dar a última palavra, mas, como até hoje nada há de positivo, arriscamos emitir a nossa opinião, que representa a soma de todas as observações e consultas que efetuamos em torno deste já velho e insolúvel “mal da cola”. Sabemos da existência das denominadas “plantas conversoras”, isto é, das que são capazes de retirar o selênio do solo, pois nem todas têm essa mesma propriedade. Sabemos, também, que varias espécies foram identificadas como conversoras, especialmente nos Estados Unidos. Citamos, apenas como exemplo, que é possível reproduzir a doença em um terneiro, fazendo-o ingerir durante oito dias, 675 gramas de uma Composta, *Oonopsis condensata*, quando proveniente de terreno selenífero. As plantas são tóxicas quando contêm dez, ou mesmo cinco partes de selênio por milhão. Um fato interessante foi observado: é o de que grãos (trigo, milho, etc.) produzidos em solos seleníferos, contêm o selênio e podem ser tóxicos para o homem e para os animais. Os derivados destes grãos, o pão por exemplo, são tóxicos. Adubações com superfosfatos ou sulfato de amônia, quando é utilizado o ácido sulfúrico selenífero na sua obtenção, podem levar aos mesmos resultados. A ocorrência da doença é verificada em determinadas épocas do ano e a seca, segundo observação geral, é favorável ao seu aparecimento e intensidade. Este fato e apenas este, é o que nos leva a acreditar na cumplicidade do eucalipto. Porque nos locais onde aparece a doença durante ou logo após um período de seca, geralmente nada se verifica em épocas normais? E, ainda, porque a presença do eucalipto? Animamos-nos a levantar a seguinte suspeição: o eucalipto, que emite raízes profundas, poderia,

nos períodos de seca, absorvendo água das camadas inferiores, trazer o selênio para a superfície. Esse seria absorvido pelas “plantas conversoras” que, existindo nas proximidades dos eucaliptos, seriam ingeridos pelo gado, e provocariam os fenômenos tóxicos. Os eucaliptos, no caso, estariam agindo apenas como “elevadores”, isto é, carreando o tóxico das camadas profundas do solo para a superfície. Sob o título “Ainda a doença do gado nos matos de eucaliptos”, o Suplemento Rural do Correio do Povo, de 12/7/1963, reproduz as declarações feitas pelo Dr. Manoel F. M. Teixeira ao Boletim da Cia. Riograndense de Adubos. O renomado técnico faz uma apreciação judiciosa do que lhe foi dado observar, além de uma descrição dos sintomas da enfermidade. O Dr. Teixeira, com a responsabilidade de técnico de merecimentos científicos que realmente o é, não precisou a etiologia da enfermidade, deixando-a pendente entre as três hipóteses mais prováveis: intoxicação por selênio; intoxicação por fungos parasitas de certos pastos e, finalmente, carência mineral. Em realidade, o profissional experiente não se deve antecipar a comprovação laboratorial, especialmente em casos dessa natureza. Os sintomas constatados, nos casos que apreciamos em bovinos, são os seguintes. Intoxicação aguda: dispnéia, timpanismo, cólicas, prostração e morte. Alguns animais apresentam sintomas que se confundem com (*os da*) a febre aftosa, numa apreciação menos detida. Intoxicação crônica: inicialmente, sintomas que se confundem com a febre aftosa - os animais babam abundantemente, claudicam e adelgaçam. Surge o caminhar errante, os membros anteriores enfraquecem, a visão diminui. Posteriormente, o animal apresenta paralisia, dispnéia intensa, cólicas e cianose das mucosas. Os pêlos longos caem ou se desprendem com facilidade. A vassoura da cauda geralmente cai, permanecendo íntegra a cauda. Destacam-se facilmente os pelos do prepúcio e testa, o mesmo acontecendo com os chifres e cascos. A mucosa nasal é intensamente congestionada, cianosada e erodada. A claudicação pode ser intensa e é devida a erosão das superfícies articulares dos ossos longos, as lesões podais, ou a ambas e se manifesta por rigidez das articulações e deformidade dos cascos, que apresentam sulco circular que, nos casos leves, permanece como uma ranhura superficial. Nos casos graves os bovinos podem perder os cascos, ou, mais comumente, os cascos se alongam e ficam voltados para cima; os animais ficam “chineludos”, como acontece após os casos de febre aftosa que deixam estas lesões nos cascos. Os olhos apresentam, nos casos graves, intenso derramamento de coloração avermelhada. Visão grandemente prejudicada, tendo-se a impressão de ir até a cegueira. Podem surgir complicações secundárias, tais como pneumonias ou enterites. Os animais sobreviventes apresentam emagrecimento muito acentuado e a recuperação é lenta e nem sempre completa. Nos equinos verificamos, apenas, queda das crinas, pêlos da cauda e lesões dos cascos, que se traduzem pela formação de um sulco circular próximo à coroa. Nos últimos surtos da doença somente bovinos têm sido atacados. Pelos sintomas acima enumerados podemos concluir, reportando-nos apenas aos que justificam as denominações de “mal da cola” e “mal dos eucaliptos”, que: no ergotismo verificamos a queda da extremidade da cauda, devida a gangrena seca, conseqüente ao bloqueio no curso de sangue. No “mal dos eucalipto” o que se verifica é a queda dos pêlos longos da cauda, ou vassoura, com integridade da cauda conservada, além das lesões dos chifres e cascos. A presença dos eucaliptos é considerada fator essencial, pois, que, o fato de cercar os matos, ou afastar os animais dessas mirtáceas, tem interrompido a evolução da doença. Estas são as observações de um profissional de aldeia, que exerce a sua atividade como Zootecnista, despida de qualquer outra pretensão que a de trazer o seu modesto subsídio ao estudo de tão discutido assunto. Os laboratórios, por certo, solucionarão definitivamente o questionado mal dos eucaliptos (GOMES, 1966, p.227-234).

No final da década de 1950 foi publicado o primeiro relato científico do mal do eucalipto (BARROS, 1958). Nessa oportunidade, o autor atribuiu a doença à intoxicação crônica por selênio (denominada nos Estados Unidos de *alkali disease, the alkali* ou *bob tail*) por ocorrer em solos alcalinos no oeste dos Estados Unidos e por causar perda dos pêlos da

ponta da cauda. A doença é relatada também na Austrália, no Canadá, no Chile, na Irlanda e em Israel e é causada pela ingestão de compostos orgânicos ou inorgânicos de selênio que são administrados naturalmente na alimentação como suplemento, ingeridos em plantas acumuladoras de selênio ou injetados na forma de preparações farmacêuticas contendo selênio (RADOSTITS et al., 1994). De fato, as lesões tegumentares da *alkali disease* (O'TOOLE & RAISBECK, 1995) são notavelmente semelhantes às da intoxicação por *R. flavo-brunnescens* (SANTOS et al., 1993; TOKARNIA et al., 2000), o que facilitou a confusão clínica entre as duas enfermidades. A confusão foi favorecida pelo fato de o autor ter enviado para determinação dos níveis de selênio, pêlos de um animal afetado e sementes de milho de uma lavoura de uma propriedade onde havia ocorrido a doença. Os resultados foram respectivamente 8,1 e 8,3 partes por milhão, que são o dobro do que é considerado tóxico. Interessante notar que o autor (BARROS, 1958) menciona a ocorrência da doença apenas em bosques de eucaliptos e considerou a possibilidade da doença ser causada “por um certo tipo de fungo que cresce junto às folhas mortas dos eucaliptos”. No entanto, a reprodução da enfermidade pela administração do fungo não foi conseguida. Retrospectivamente, o autor considera (BARROS, 2005)* que as determinações de selênio tenham sido elevadas em decorrência de problemas na técnica do laboratório que as realizou e que as quantidades do “certo tipo de fungo” administrada ao bovino (que sabe-se hoje é *R. flavo-brunnescens*) foram abaixo do que é estabelecido hoje como dose tóxica. Uma informação interessante que consta desse trabalho (BARROS, 1958) é a de que “o poder tóxico do selênio reside na sua capacidade de substituir o enxofre nos ácidos aminados sulfurados”. A intoxicação crônica por selênio produz outra manifestação clínica em animais de produção, caracterizada por sinais clínicos de distúrbios nervosos e conhecida genericamente nos EUA como *blind staggers* (RADOSTITS et al., 1994). A existência dessa doença como uma entidade específica causada pela intoxicação por selênio é, no entanto, bastante contestada (O'TOOLE & RAISBECK, 1995).

Desde 1958 até 1965, notícias sobre o mal do eucalipto afetando bovinos do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná foram veiculadas em revistas de divulgação agropecuária (ANÔNIMO, 1963; 1965). Essas notícias divulgaram pesquisas que estavam sendo desenvolvidas no Instituto de Pesquisa Desidério Finamor, então em Guaíba, RS, para identificar a causa do mal do eucalipto e que um cogumelo que crescia nos matos de eucalipto

*Barros S.S. 2005. Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900 Pelotas, Rio Grande do Sul. severo@smail.ufsm.br

era suspeitado como causa (ANÔNIMO, 1965). É informado que no município de Osório, Rio Grande do Sul, numa fazenda onde havia 600 bovinos com acesso a bosques de eucaliptos, 150 adoeceram e 35 morreram, com taxas de morbidade mortalidade e letalidade de, respectivamente, 25,0%, 5,8% e 23,3%. Citam-se como municípios mais afetados, Cacequi, Guaíba, Júlio de Castilhos, Livramento, Montenegro, Osório, Palmares, Santa Maria, São Jerônimo, Triunfo e Viamão. É igualmente comentado em uma dessas divulgações que o mal do eucalipto foi novamente confundido com a febre aftosa em várias oportunidades (ANÔNIMO, 1965).

A etiologia do mal do eucalipto foi definitivamente esclarecida (BAUER et al., 1966) com a reprodução da doença pela administração por via oral do cogumelo (na época identificado como *Ramaria* sp.) a três bovinos. Um deles, um terneiro de 7 meses, recebeu 250 g do fungo por dois dias seguidos e adoeceu no sétimo dia do experimento e morreu no 27º dia. Outros dois bovinos de cerca de 170 kg cada um, adoeceram 7 e 20 dias após o início do experimento, tendo se recuperado após uma doença mais leve, provavelmente porque o fungo havia sido colhido mais de 24 horas antes da administração, pois a volatilidade do princípio ativo é reconhecida (SALLIS et al., 2004). No trabalho de 1966 são também mencionados experimentos em cobaias, mas a metodologia e os resultados não parecem claros.

O cogumelo colhido em Osório, RS, e que havia sido identificado em 1965 (BAUER, 1966) apenas como *Ramaria* sp., foi enviado para o instituto de Botânica de São Paulo e classificado como *R. flavo-brunnescens* da família Clavariaceae (FIDALGO & FIDALGO, 1970). O fungo é descrito ali como crescendo no solo de eucaliptos e tóxico quando cru, mas perdendo a toxidez e podendo ser consumido por pessoas após cocção. O princípio ativo, embora não identificado, é descrito como acumulativo.

Durante os anos de 1957-1963 foi relatado que a enfermidade ocorria no outono em vários rebanhos de bovinos e ovinos no Uruguai (FREITAS et al., 1966). A etiologia foi atribuída ao cogumelo *Clavaria* sp. que, sabe-se agora, trata-se de *R. flavo-brunnescens*. Devido à localização das lesões, os autores denominaram a doença pelo acrônimo *bocopa* (**b**oca, **c**ola e **p**atas). Novamente aqui a doença foi confundida com a febre aftosa pelos proprietários. Nos quatro surtos afetando bovinos dos departamentos de Canelones, Tacuarembó e Rocha, foram observadas taxas de morbidade, mortalidade e letalidade, respectivamente de 75%-100%, 75%-90%, 52%-56%. Esses autores (FREITAS et al., 1966) afirmam que os sinais clínicos apresentam-se em bovinos de qualquer idade, que tenham acesso a matos de eucalipto. Embora o apetite e a sede se mantenham, aos três dias da

enfermidade os bovinos têm sialorréia e não podem deglutir os alimentos. A conjuntiva é congesta e nos casos graves há hemorragias nas câmaras anterior e posterior do olho, causando cegueira. Em uma semana, há afrouxamento e perda dos pêlos da vassoura da cauda e do lombo. Ao mesmo tempo, há afrouxamento dos estojos córneos dos cascos e chifres e, dentro de um mês, os cascos começam a cair deixando à mostra a parte óssea. O curso clínico pode ser de 8-12 dias, mas se os animais são retirados do campo com eucalipto os sinais podem se estender e pode haver recuperação. Na necropsia é descrito desprendimento do epitélio da boca (sem formação de vesículas) e mucosa do esôfago (observada em todos os casos) com avermelhamento, zonas hemorrágicas, e consistência acartonada e granular. Na histopatologia do encéfalo há hiperemia discreta e generalizada e no tronco encefálico observam-se “processos de degeneração neuronal com imagens de cromatólise”. Descrevem também que nos ovinos o quadro clínico é diferente: ocorre ataxia e fenômenos de alucinação e os ovinos conservam o apetite, mas diferentemente dos bovinos, podem deglutir, beber e se recuperam aos 20-30 dias.

Os mesmos achados relatados anteriormente (FREITAS et al., 1966) são reproduzidos em outro trabalho (QUINONES-SOWERBY, 1973) que adiciona a reprodução da doença em bovinos e cobaias por via oral. É estranho que, nessa reprodução experimental, o fungo tenha sido administrado oralmente num estágio “algo envelhecido naturalmente” e mesmo assim tenha causado a doença. A intoxicação em cobaias era caracterizada por úlceras na língua; as lesões da reprodução experimental em bovinos não são descritas, mas relata-se que todos morreram “com exceção e um ou dois por lote”. As informações sobre os experimentos realizados são pouco precisas; sabe-se que o princípio ativo em *R. flavo-brunnescens* é bastante volátil (SALLIS et al., 1993; 2000; 2004) e seria pouco provável que se produzisse a intoxicação administrando o cogumelo “algo envelhecido” e deteriorado. Nesse mesmo trabalho, a tentativa de reprodução da doença por injeção de sangue de animais enfermos em terneiros de sobreano não foi conseguida. Tentaram ainda intoxicar ratos, coelhos e porcos sem sucesso e relatam que surtos espontâneos da doença podem ocorrer na primavera.

Achados semelhantes aparecem publicados no Brasil em meados da década de 1970 quando dois casos espontâneos da intoxicação por *R. flavo-brunnescens* e a reprodução experimental da intoxicação foram relatados em bovinos (SANTOS et al., 1975). A reprodução foi conseguida por administração, por via oral (em garrafas), de *R. flavo-brunnescens* misturada à água e triturada em liquidificador a 10 bovinos (dos quais três morreram nos dias 13, 19 e 30 do início do experimento). A dose mínima para produzir os sinais clínicos foi calculada em 5 g/kg por 5 dias e 20 g/kg por 18 dias para provocar a morte.

Nos casos experimentais observou-se sialorréia, emagrecimento, queda dos pêlos da extremidade da cauda e alisamento da superfície dorsal da língua por atrofia das papilas filiformes. Achados de necropsia incluíam alisamento da superfície dorsal da língua e ulcerações no esôfago de três animais: um dos bezerros dos casos espontâneos e dois animais dos três que morreram no experimento tinham ulcerações lineares na mucosa esofagiana; num caso (o espontâneo), as úlceras eram recobertas por exsudato amarelado e noutro (experimental) eram recobertas por material necrótico. Havia edema de laringe em um animal que morreu no experimento. Nos casos naturais da doença foram observados ainda afrouxamento dos cascos e chifres, hemorragias na câmara anterior do olho e cegueira. Em dois casos é relatado infiltrado inflamatório nos espaços perivasculares do encéfalo, mas se acredita que isso sejam lesões incidentais.

No mesmo ano (MAGALHÃES et al., 1975) foi relatada a determinação da dose letal cinqüenta (DL₅₀) para camundongos (que foi 342,14 mg/kg). Esses resultados, no entanto, apresentam alguns problemas de interpretação devido à metodologia empregada. A DL₅₀ foi determinada por injeções intraperitoniais do extrato aquoso de *R. flavo-brunnescens*. O efeito tóxico do cogumelo em bovinos é exercido após a ingestão por via oral (não intraperitonal) e há evidências que o extrato aquoso não contém o princípio ativo (SALLIS et al., 2004). Além disso, o trabalho (MAGALHÃES et al., 1975) não menciona como morreram os camundongos nem se foram encontradas lesões que lembrem a intoxicação natural.

Em 1978 a ocorrência da intoxicação por *R. flavo-brunnescens* é relatada em Uberlândia, Minas Gerais (PARREIRA 1978). Num seminário apresentado ao Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais o autor descreve a doença em uma novilha mestiça de 18 meses de idade. Menciona que o caso do bovino relatado em seu seminário havia sido atendido inicialmente pela equipe de Identificação e Controle de Surtos de Febre Aftosa do Instituto Vallée S/A em razão da enfermidade ter sido confundida com febre aftosa. A enfermidade descrita neste trabalho afetou 40 bovinos de uma população sob risco de 300 (entre touros, vacas, novilhos e bezerros). Dos 40 bovinos afetados 8 morreram e um foi necropsiado. Os sinais observados no bovino examinado incluíam anorexia, sialorréia, opacidade da córnea, cegueira, perda de pêlos na extremidade da cauda, corrimento nasal seromucoso, hifema, descamação do epitélio da língua e boca e manqueira. Na necropsia confirmaram-se os principais achados clínicos.

Em 1981 (DÖBEREINER 1981) relata a ocorrência da intoxicação por *R. flavo-brunnescens* na região de Montes Claros, Minas Gerais. Numa viagem de estudo para pesquisar a morte de bovinos durante o mês de agosto, numa fazenda no município de

Buritizeiro onde adoeceram 40 bovinos mestiços zebu com 1-5 anos de idade, dos quais 12 morreram. É relatado que um quadro clínico característico da intoxicação e mencionado que a doença foi controlada quando o acesso dos bovinos ao mato de eucalipto foi vedado. É mencionado também que o “mal do eucalipto” já havia sido mencionado em outras regiões de Minas Gerais como Uberlândia, Araxá, Alto Parnaíba e João Pinheiro.

A intoxicação foi posteriormente relatada em Campinas, São Paulo (PASCHOAL et al., 1983) com morbidade de 3,6% em bovinos que tiveram acesso a um bosque de eucalipto com abundância de *R. flavo-brunnescens*. A doença ocorreu no verão; os sinais clínicos, os achados de necropsia e a histopatologia foram semelhantes ao que já havia sido descrito para a intoxicação por *R. flavo-brunnescens* em bovinos (BAUER et al., 1966, FREITAS et al., 1966, SANTOS et al., 1975) acrescidos de pigmentação amarelada ao redor dos olhos e do pescoço. Exames químicos do cogumelo revelaram 87,5% de água, 28,5% de proteínas, 0,30% de sódio e 1% de potássio.

Na década de 1980, alguns autores relatam que a frequência da intoxicação por *R. flavo-brunnescens* em bovinos parecia ter diminuído no Estado do Rio Grande do Sul, devido à divulgação da doença e conscientização dos veterinários e proprietários que passaram a cercar os bosques de eucalipto. Esses autores relatam ainda um caso da intoxicação em ovino que havia penetrado no mato de eucalipto através de um defeito na cerca, mas não descrevem os sinais clínicos ou achados de necropsia (RIET-CORREA et al., 1983). O mesmo grupo de autores (RIET-CORREA et al., 1985) descreve a intoxicação por *R. flavo-brunnescens* em bovinos no município de Rio Grande, Rio Grande do Sul. Num período de 30 dias, a doença afetou um lote de 15 bovinos com taxas de morbidade, mortalidade e letalidade, respectivamente, de 33,3%, 20% e 60%. Além dos sinais clínicos, achados de necropsia e histopatologia comumente descritos em associação com essa toxicose, os autores relatam o achado de um exsudato amarelado nas áreas brancas da pele.

Ainda em meados da década de 1980, os primeiros surtos da intoxicação por *R. flavo-brunnescens* são descritos em bovinos na Argentina, nas Províncias de Corrientes e Entre Rios (ZURBRIGGEN et al., 1985). A doença, denominada pelos autores “mal de los eucaliptales”, ocorreu entre janeiro e junho com uma mortalidade de 10%, e foi reproduzida pela administração de 13,8 g/kg/dia por via oral a um bovino de 210 kg durante 30 dias. O animal adoeceu no sexto dia e foi sacrificado no 30º dia do experimento. A doença ocorreu no verão; os sinais clínicos, achados de necropsia e histopatologia foram semelhantes ao que já havia sido descrito para a intoxicação por *R. flavo-brunnescens* em bovinos (BAUER et al., 1966; FREITAS et al., 1966; SANTOS et al., 1975).

Também na Argentina, no final da década de 1980, dois pesquisadores (TOLEDO & PETERSEN, 1989) relataram a identificação (como *R. toxica*) de um cogumelo (aparentemente idêntico a *R. flavo-brunnescens*) associado à intoxicação em bovinos (causando doença aparentemente idêntica à intoxicação por *R. flavo-brunnescens*). A validade da existência de duas espécies de cogumelos do mesmo gênero, causando doença praticamente idêntica em bovinos não nos parece definitiva ou clara.

Já no início da década de 1990, autores argentinos (PERUSIA & RODRIGUEZ, 1992) descrevem *R. flavo-brunnescens* como um cogumelo (“macrofungo”) em forma de couve-flor que pode alcançar até 8-10 cm de altura e 6-8 cm de largura, amarelo-ocre e com vida média de 5-10 dias. Definem a doença produzida em bovinos pela ingestão desse cogumelo como gangrenosa, inclusive com necrose da ponta da cauda, e sugerem que o “macrofungo” seja infectado por “microfungos” que produzem ergotoxinas responsáveis pelas lesões. Relatam que aos 7-8 dias se produz o desprendimento dos chifres e, mais tarde, dos cascos.

Também no início da década de 1990 e da década de 2000 (SALLIS et al., 1993; 2000), são publicados dois trabalhos que relatam a intoxicação em vários ovinos pela administração oral do cogumelo *R. flavo-brunnescens*. Sinais clínicos observados incluíam distúrbios neurológicos como incoordenação, nistagmo, paralisia flácida do lábio inferior, hipermetria e outros como poliúria, dispnéia, tremores musculares, ptialismo, perda de lã, úlceras na língua e hemorragias na câmara anterior do olho. Esses autores apresentam a hipótese que as lesões da intoxicação por *R. flavo-brunnescens* pelos ovinos sejam causadas pela isquemia resultante do espessamento da musculatura de arteríolas, uma lesão denominada miopaquinse, e da degeneração do endotélio dessas arteríolas, algo semelhante ao que é descrito no ergotismo em bovinos. À miopaquinse, seguir-se-ia degeneração, necrose e ulceração dos epitélios. Os autores mencionam que o princípio ativo de *R. flavo-brunnescens* é desconhecido, mas que um alcalóide termolábil foi detectado nele. Adicionalmente, demonstram que a toxicidade de *R. flavo-brunnescens* diminui após o congelamento e, desaparece após o dessecamento.

Novos experimentos em bovinos foram realizados em meados da década de 1990, KOMMERS & SANTOS, 1995). Sete bezerros foram submetidos à administração, por via oral, com *R. flavo-brunnescens*. Desses, três morreram em consequência da toxicose, três foram eutanasiados com sinais clínicos da doença e um se recuperou. O bovino que se recuperou, recebeu o cogumelo previamente congelado e os outros bovinos receberam o cogumelo recém-colhido. Os sinais clínicos apareciam 3-6 dias após o início da administração do cogumelo e incluíam sialorréia, corrimento nasal seromucoso, avermelhamento do rodete

coronário, aumento da sensibilidade dos cascos, alisamento da superfície dorsal da língua, perda dos pêlos da vassoura da cauda e do dorso, claudicação, diarreia, anorexia, decréscimo dos movimentos ruminais, emagrecimento e afrouxamento dos cascos. Os autores demonstraram que as alterações histopatológicas são mais acentuadas onde ocorre o processo de queratinização dura, onde há uma alta percentagem de aminoácidos ricos em enxofre, como a cistina, envolvidos no processo de queratinização. É sugerido que na intoxicação por *R. flavo-brunnescens* ocorra um distúrbio do metabolismo de proteínas com alto teor de enxofre, presentes nos queratinócitos. Isso resultaria na perda da estabilidade nas ligações moleculares da queratina dura e, conseqüentemente, no afrouxamento dos cascos, pêlos e chifres e na atrofia das papilas filiformes. Essa hipótese parece bastante plausível quando se considera que as lesões tegumentares encontradas em bovinos intoxicados por *R. flavo-brunnescens* são semelhantes às da intoxicação crônica por selênio em bovinos (O'TOOLE & RAISBECK, 1995).

Em 2001 (RIET-CORREA et al. 2004) uma revisão sobre a intoxicação por *R. flavo-brunnescens* em animais domésticos foi apresentada no sexto *International Symposium of Poisonous Plants*, realizado em Glasgow, Escócia. Nesse trabalho os autores revisaram a epidemiologia, os sinais clínicos, a patologia, as doses tóxicas, o princípio ativo do cogumelo e a patogênese da intoxicação. Com relação à patogênese, são citadas as hipóteses já mencionadas de que as 1) lesões seriam devidas à interferência no metabolismo dos aminoácidos sulfurados nos queratinócitos, principalmente cistina, com resultante alteração na estrutura molecular da queratina dura ou 2) que as lesões resultariam da ação de substâncias, presentes em *R. flavo-brunnescens*, com ação biológica semelhante aos ergocalcólides.

Experimentos foram realizados em ovinos em meados da década de 2000 para comparar a toxidez do cogumelo previamente congelado ou dessecado com a toxidez do cogumelo fresco (SALLIS et al., 2004). A doença produzida em ovinos que receberam o cogumelo congelado foi menos intensa que a induzida pelo cogumelo fresco; o cogumelo dessecado à sombra não produziu a doença, demonstrando que há perda da toxicidade do cogumelo dessecado e diminuição da toxicidade do cogumelo congelado. Os autores sugerem que as pesquisas sobre o princípio ativo de *R. flavo-brunnescens* podem ser realizadas com o cogumelo congelado ou liofilizado. Os ovinos que receberam o cogumelo previamente congelado apresentaram distúrbios nervosos como incoordenação motora, membros pélvicos afastados e crises epileptiformes, de aproximadamente um minuto de duração, com quedas para um dos lados, tetania, opistótono e nistagmo. Outros achados incluíam apatia,

hipertermia, congestão da esclera, hemorragias na câmara anterior do globo ocular, opacidade da córnea e lesões do rodete coronário.

Nessa mesma época a intoxicação pelo cogumelo *R. flavo-brunnescens* foi relatada pela primeira vez em búfalos de uma propriedade em Guaíba, no Rio Grande do Sul (ROZZA et al., 2004). Entre 9 e 16 de junho, 91 búfalos tiveram acesso a um mato de eucalipto onde havia o cogumelo *R. flavo-brunnescens* e seis desses animais apresentaram sinais clínicos de emagrecimento progressivo, sialórréia e alisamento da superfície dorsal da língua. A ponta da cauda e das orelhas perderam os pêlos e apresentavam necrose. Dois animais mais afetados mostraram claudicação. Não foram relatadas mortes.

3 TRABALHO

**INTOXICAÇÃO POR *Ramaria flavo-brunnescens*
(CLAVARIACEAE) EM BOVINOS**

**Ricardo R. Barros, Luiz F. Irigoyen, Glaucia D. Kommers, Raquel R. Rech,
Rafael A. Fighera e Claudio S. L. Barros**

ENVIADO PARA PUBLICAÇÃO

em 04.11.05

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* (Clavariaceae) em bovinos¹

Ricardo R. Barros², Luiz F. Irigoyen³, Glaucia D. Kommers³, Raquel R. Rech², Rafael A. Fighera² e Claudio S.L. Barros^{3*}

ABSTRACT.- Barros R.R., Irigoyen L.F., Kommers G.D., Rech R.R., Fighera R.A. & Barros C.S.L. 2005. [Poisoning by *Ramaria flavo-brunnescens* (Clavariaceae) in cattle] Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* (Clavariaceae) em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00 (0): 000-000. Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 Santa Maria, RS, Brazil. E-mail: claudioslbarros@uol.com.br

Two outbreaks of poisoning by the mushroom *Ramaria flavo-brunnescens* are reported in cattle from two farms located in the municipalities of Santa Maria and São Gabriel, state of Rio Grande do Sul, during April-May 2005. Out of a total of 180 yearling calves that had access to a pasture with eucalyptus woods, 19 were affected and 10 died. The clinical courses were 8-15 days and clinical signs included depression, weight loss, dehydration, drooling, loosening and loss of the long hairs of the tip of the tail, smoothening of the dorsal surface of the tongue with occasional ulceration, loosening of the corneal encasement of horns, hard and ball-shaped feces covered with a film of mucous, hypopion, hyphema and corneal opacity. Two calves had leucocytosis due to mild regenerative left shift. Nine calves were necropsied. Necropsy findings confirmed the clinical observation and additionally included fibrinonecrotic esophagitis, mainly in the distal third of the esophageal mucosa. Histopathological changes in the skin of the tail included orthokeratotic hyperkeratosis; hair follicles with irregular contours, thickening of the tricolemmal keratin layer with occasional formation of keratin plugs, and degeneration and necrosis of the outer root sheath. At the laminar region of the hooves, there was hyperplasia of the top of epidermal laminae with irregular keratinization and retention of nuclei; several epidermal laminae were shortened and fused. There was hemorrhage, fibrin and neutrophilic infiltrate in the dermal laminae. In the mucosa of the tongue there was thinning of the covering epithelium, atrophy and loss of filiform papillae, multifocal areas of dyskeratosis, and spongiosis of the basal cell layer. In some parts the epithelium was lost and

¹ Recebido em 11 de novembro de 2005.

Aceito para publicação em de de 2005. Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor.

²Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia Veterinária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

³Depto Patologia, UFSM, 97105-900, Santa Maria, Rio Grande do Sul. *Autor para correspondência. E-mail: claudioslbarros@uol.com.br

the surface consisted of granulation tissue and mixed inflammatory cell infiltrate. The esophageal mucosae of six calves had varying degree of epithelial necrosis and inflammation. The loss of the covering epithelium revealed an underneath area of granulation tissue with heavy inflammatory infiltrate composed predominantly of neutrophils and macrophages. In six calves there were focal symmetric bilateral areas of malacia observed at the level of obex in the medulla oblongata and affecting the white matter and parts of the dorsal nucleus of the vagus and of the hypoglossal nucleus. The epidemiology, clinical signs, pathology, and pathogenesis of poisoning by *R. flavo-brunnescens* in cattle are discussed.

INDEX TERMS: Poisonous plants, *Ramaria flavo-brunnescens*, Clavariaceae, plant poisoning, mushroom poisoning, keratinization defect, focal symmetric encephalomalacia, diseases of cattle, pathology.

RESUMO.- Dois surtos de intoxicação pelo cogumelo *Ramaria flavo-brunnescens* são relatados em bovinos de duas fazendas localizadas nos municípios de Santa Maria e São Gabriel, no Rio Grande do Sul, no período de abril-maio de 2005. De um total de 180 bovinos de sobreano que tiveram acesso a bosques de eucaliptos, 19 adoeceram e 10 morreram. A evolução clínica foi de 8-15 dias e os sinais clínicos incluíam depressão, perda de peso, desidratação, salivação excessiva, afrouxamento e perda dos pêlos longos da cauda, alisamento da superfície dorsal da língua com ocasional ulceração, afrouxamento do estojo córneo dos chifres, fezes em forma de cíbalos e recobertas por película de muco, hipópion, hifema e opacidade da córnea. Dois novilhos tinham leucocitose devido a leve desvio regenerativo à esquerda. Os achados de necropsia confirmaram as observações clínicas e adicionalmente incluíam esofagite fibrinonecrótica, principalmente no terço distal do esôfago. Alterações histopatológicas na pele da cauda incluíam hiperqueratose ortoqueratótica, folículos pilosos com contornos irregulares, espessamento da camada de queratina tricolemal e formação ocasional de tampões de queratina; degeneração e necrose da bainha radicular externa também era observada. Nos cascos havia hemorragia, fibrina e infiltrado neutrofílico nas lâminas dérmicas, hiperplasia do topo das lâminas epidérmicas com queratinização irregular e retenção dos núcleos; várias lâminas epidérmicas estavam encurtadas e fundidas. Na mucosa da língua o epitélio de revestimento estava adelgado, com atrofia e perda das papilas filiformes, áreas multifocais de disqueratose e espongiose das células da camada basal. Em algumas porções havia perda do epitélio e a superfície da língua era formada por tecido de granulação e infiltrado inflamatório misto. A mucosa esofágica de seis novilhos

apresentava vários graus de necrose epitelial e inflamação. A perda do epitélio de revestimento revelava uma área subjacente de tecido de granulação com marcado infiltrado inflamatório predominantemente neutrofílico e macrofágico. Em seis novilhos, o bulbo, na altura do óbex, apresentava áreas focais bilaterais e simétricas de malacia que afetava a substância branca e partes do núcleo dorsal do vago e do núcleo hipoglosso. São discutidos a epidemiologia, os sinais clínicos, a patologia e a patogênese da intoxicação por *R. flavo-brunnescens* em bovinos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, *Ramaria flavo-brunnescens*, Clavariaceae, intoxicação por planta, intoxicação por cogumelo, distúrbio da queratinização, encefalomalacia focal simétrica, doenças de bovinos, patologia.

INTRODUÇÃO

O cogumelo *Ramaria flavo-brunnescens*, da família Clavariaceae, cresce exclusivamente em solos de matas de eucaliptos (Fidalgo & Fidalgo 1970), é palatável e sua ingestão espontânea tem causado intoxicação em bovinos (Bauer et al. 1966, Santos et al. 1975, Paschoal et al. 1983, Kommers & Santos 1995), ovinos (Prucoli & Camargo 1965/66, Riet-Correa et al. 1983, Riet-Correa et al. 2001) e, menos freqüentemente, búfalos (Rozza et al. 2004) e eqüinos (Santos et al. 1975, 1993), das regiões Sul e Sudeste do Brasil. A intoxicação é também registrada em bovinos no Uruguai (Freitas et al. 1966, Quinõnes-Sowerby 1973) e Argentina (Zurbriggen et al. 1985). Devido a consistente associação entre a toxicose e o pastoreio em matas de eucalipto a doença foi denominada “mal do eucalipto”. No Uruguai, o acrônimo *bocopa* foi empregado para designar a doença em razão das lesões ocorrerem na boca, cola e patas (Freitas et al. 1966). O mal do eucalipto tem ocorrência sazonal definida que coincide com o ciclo de vida do cogumelo (fevereiro-junho) que é especialmente abundante em outonos quentes e chuvosos após verões secos (Paschoal et al. 1983, Tokarnia et al. 2000).

Desde o primeiro relato da doença em bovinos (Barros 1958), a intoxicação tem sido reproduzida em bovinos (Bauer & Laranja 1966, Santos et al. 1975, Zurbriggen et al. 1985, Kommers & Santos 1995) e ovinos (Prucoli & Camargo 1965/66, Sallis et al. 2000, 2004).

Os aspectos clínicos e patológicos da doença em bovinos incluem depressão, anorexia, salivação excessiva, alisamento da superfície dorsal da língua, afrouxamento e perda dos pêlos da vassoura da cauda, afrouxamento e perda da porção córnea dos cascos e chifres, opacidade da córnea, hemorragia da câmara anterior do olho e ulcerações focais ou multifocais na língua e esôfago (Santos et al. 1975, Kommers & Santos 1995, Riet-Correa et

al. 2001). O curso clínico varia de 8-30 dias, após os quais os bovinos afetados morrem ou se recuperam (Santos et al.1975, Kommers & Santos 1995).

Este trabalho descreve os aspectos epidemiológicos, clínicos e anatomopatológicos de dois surtos espontâneos da intoxicação por *R. flavo-brunnescens*, incluindo a descrição de malacia focal simétrica no tronco encefálico, lesão que não tinha ainda sido associada à essa intoxicação.

MATERIAL E MÉTODOS

Os dados epidemiológicos e clínicos da intoxicação pelo cogumelo *Ramaria flavo-brunnescens* (Atk.) Corner foram obtidos através de visitas às propriedades onde ocorreram os surtos, designadas Propriedades A e B. Duas visitas foram realizadas na Propriedade A e uma visita na Propriedade B. Os dados foram complementados por questionários aplicados aos proprietários e veterinários que atenderam aos surtos. Seis bovinos (identificados por números de 1-6) e 3 bovinos (identificados por números de 7-9) foram necropsiados pelos autores respectivamente nas Propriedades A e B. Hemogramas foram realizados em 4 bovinos (2, 4-6) da Propriedade A. Dos 9 bovinos necropsiados, 8 foram submetidos à eutanásia quando moribundos e um deles (Bovino 7) teve morte espontânea. De todos os bovinos necropsiados, foram colhidos para histopatologia fragmentos dos seguintes órgãos: abomaso, casco (dígito do membro torácico direito), coração, encéfalo, esôfago, fígado, globo ocular, língua, omaso, pele (corte transversal da ponta da cauda), pulmão, retículo, rim e rúmen. Foi colhido também um conjunto de tecidos que incluía a *rete mirabile* carotídea, os gânglios do nervo trigêmeo e a hipófise. Três regiões da língua foram amostradas: ápice, corpo e raiz. Cada um dos 9 encéfalos colhidos foi fixado inteiro em 6 litros de formol a 10%, por duas semanas. De cada caso, os seguintes fragmentos do encéfalo foram selecionados para exame histológico após a fixação: (1) bulbo na altura do óbex, (2) cerebelo, (3) ponte com pedúnculos cerebelares, (4) mesencéfalo na altura dos colículos rostrais (5), diencéfalo através da massa intermédia e (6) lobo frontal na altura do joelho do corpo caloso e dos núcleos da base. Os fragmentos de encéfalo e dos outros tecidos foram processados rotineiramente para histologia e corados pela hematoxilina e eosina (HE).

Os índices de precipitação pluviométrica mensal no Rio Grande do Sul, desde janeiro de 2002 até setembro de 2005, foram obtidos junto à Estação Climatológica do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria.

RESULTADOS

Epidemiologia

As Propriedades A e B são localizadas respectivamente nos municípios de Santa Maria e São Gabriel, no Rio Grande do Sul. Na Propriedade A, 24 novilhos de 18 meses estavam num potreiro de 20 hectares, dos quais 15 eram de mata de eucalipto. Os novilhos começaram a adoecer em 15 de abril. Até meados de maio de 2005, 12 novilhos haviam adoecido, 6 deles foram eutanasiados quando moribundos e 6 se recuperaram. Na Propriedade B, 156 novilhos de 18 meses estavam num pasto de 200 hectares, dos quais 40 eram de mata de eucalipto. Entre 18 de abril e 10 de maio de 2005, 7 novilhos adoeceram e 4 morreram. Em ambas as propriedades as matas de eucalipto eram infestadas por abundante quantidade de *Ramaria flavo-brunnescens* (Fig.1). Os índices de precipitação pluviométrica mensal no Rio Grande do Sul, desde janeiro de 2002 até setembro de 2005 constam da Fig.2.

Sinais clínicos

Todos os bovinos afetados estavam em mau estado nutricional, enquadrando-se no Grau 1 na classificação de estado corporal adotada (Stöber et al. 1990). A doença apresentou uma evolução clínica de 8-15 dias. Sinais clínicos observados em todos os novilhos afetados incluíam depressão, emagrecimento, desidratação, salivação abundante (Fig. 3), afrouxamento e queda dos pêlos da vassoura da cauda (Fig.4) e alisamento da superfície dorsal da língua que, em 5 casos, mostrava úlcera arredondada de 2 a 4 cm de diâmetro na superfície dorsal do ápice. Sinais clínicos encontrados em apenas alguns dos novilhos afetados incluíam afrouxamento da porção córnea dos chifres (Fig.5), fezes em forma de cíbalos e recobertas por película de muco, hipópion, hifema e opacidade da córnea.

Achados hematológicos

Os Bovinos 2 e 5 apresentaram leucocitose, que variou de 16.000 a 22.100 leucócitos/mm³ de sangue. Nesses dois novilhos a leucocitose resultou de um leve aumento na quantidade de neutrófilos segmentados (5.120 e 12.155/mm³ de sangue) e bastonetes (640 e 2.210/mm³ de sangue), isto é, desvio regenerativo à esquerda. No Bovino 2, além do desvio, havia monocitose leve (1.105/mm³ de sangue).

Achados de necropsia

Todos os 9 bovinos necropsiados estavam em mau estado nutricional e havia desidratação do cadáver que variava de moderada (Bov. 5 e 6) a acentuada (Bov. 1-4, 7 e 9). Nos Bovinos

1, 3 e 6 havia formação de crostas no focinho com desprendimento focal do epitélio. Uma lesão característica e comum a todos os novilhos afetados era a perda dos pêlos da extremidade da cauda. Em 6 novilhos (Bov. 1, 3, 5, 6, 8 e 9), a perda de pêlos era total e nos outros dois bovinos a perda era parcial, mas os pêlos remanescentes eram facilmente destacáveis. Em todos os bovinos era notável o alisamento da superfície dorsal da língua, em razão da atrofia das papilas filiformes (Fig.6); essas alterações eram acompanhadas, em 4 casos, por desprendimento do epitélio lingual que era recoberto por fibrina (Bov. 1, 6, 7 e 9). Em 5 novilhos (Bovinos 2-6) havia papilomas aleatoriamente distribuídos na pele da face; alguns deles, principalmente os localizados nas comissuras labiais do lado direito, apresentavam miíase. Em 3 casos (Bov. 1, 5 e 6) percebeu-se um tom amarelado na pele da região interna do pavilhão auditivo e no esmalte dos dentes.

Em 5 dos novilhos necropsiados (Bov. 2, 3, 5, 6 e 8) havia uma úlcera arredondada e deprimida, com diâmetros que variavam de 2-4cm, localizada na superfície dorsal do ápice da língua. No Bovino 5, a úlcera era recoberta por coágulos de sangue (Fig.7) e no Bovino 6 por fibrina. Mesmo nos outros bovinos em que essas úlceras não ocorriam, o epitélio da área correspondente à localização das úlceras era mais delgado. No Bovino 4 havia múltiplas úlceras bilaterais na região lateroventral da língua; nesse caso, as úlceras eram parcialmente cicatrizadas pois tinham os bordos espessos e salientes.

O esôfago dos Bovinos 6, 8 e 9 era normal, mas nos demais 6 bovinos havia erosões ou ulcerações lineares que podiam atingir toda a extensão da mucosa (Bov.1 e 2), mas, que, em todos os bovinos, poupavam os primeiros 30cm da extensão da mucosa e eram mais pronunciadas no seu terço final. Na porção proximal do esôfago as erosões tinham aproximadamente 0,5cm de diâmetro e eram semelhantes às que ocorrem em casos de infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVD). No terço final, as lesões tinham caráter fibrinonecrótico e estavam recobertas por material escuro ou branco-esverdeado e eram semelhantes às da esofagite fibrinonecrótica que se observa em casos de uremia em bovinos (Fig.8). Nos Bovinos 5 e 7 havia edema respectivamente moderado e acentuado da mucosa do esôfago. A mucosa do abomaso dos Bovinos 4 e 5 estava acentuadamente avermelhada e havia úlceras de 0,4cm de diâmetro na porção fúndica da mucosa do abomaso do Bovino 5.

Afrouxamento do estojo córneo dos chifres estava presente em dois casos (Bov. 4 e 9). Nos Bovinos 2 e 5 fluía abundante quantidade de líquido cefalorraquidiano à abertura do crânio e as leptomeninges do encéfalo estavam moderadamente hiperêmicas. Em ambos os globos oculares dos Bovinos 2 e 9 respectivamente havia sangue (hifema) e exsudato branco opaco (hipópion) na câmara anterior do olho.

Achados histopatológicos

Na pele da ponta da cauda as lesões eram qualitativamente as mesmas em todos os bovinos, com algum grau de variação da intensidade das lesões entre eles. Na epiderme havia hiperqueratose ortoqueratótica moderada ou acentuada e os folículos pilosos da derme superficial apresentavam espessa camada de queratina tricolemal, formando tampões queratínicos; as glândulas sudoríparas estavam dilatadas e os vasos sanguíneos estavam íntegros (Fig.9a); somente em raros folículos observava-se a haste do pêlo e grande número deles tinham o contorno irregular. Nos folículos da derme profunda havia intensa vacuolização, degeneração e necrose, principalmente da bainha radicular externa (BRE), com algumas células em apoptose e alguns folículos apresentavam tampões queratínicos ou acúmulos irregulares de queratina tricolemal. Alguns folículos estavam fechados e com a bainha radicular fibrosa espessada, características de folículos em fase telogênica (Fig.9b). No interior de alguns folículos pilosos havia hastes de pêlo degeneradas com intensa pigmentação de melanina que se espalhava pela BRE degenerada. Na luz folicular havia detritos necróticos e neutrófilos associados à incontinência pigmentar. Em alguns casos observava-se leve hemorragia na papila dérmica. Entre os folículos pilosos mais afetados, havia infiltrado mononuclear multifocal composto por linfócitos e macrófagos (Fig.9c).

Nas seções do ápice, corpo e raiz da língua as lesões eram essencialmente iguais; havia adelgaçamento (atrofia) do epitélio de revestimento, atrofia com desaparecimento das papilas filiformes, áreas multifocais de disqueratose e áreas de espongiose da camada de células basais. No ápice da superfície dorsal da língua dos Bovinos 2, 3, 5, 6 e 8, o adelgaçamento do epitélio era contínuo com área ulcerada que se estendia até a lâmina própria, onde havia tecido de granulação imaturo infiltrado por neutrófilos, macrófagos, linfócitos e plasmócitos. O infiltrado inflamatório na lâmina própria do ápice da língua do Bovino 5 incluía ainda eosinófilos e células gigantes que cercavam fibras vegetais. Nos Bovinos 4 e 6 observou-se incontinência pigmentar na lâmina própria (Fig.10).

Em cinco novilhos (Bovinos 1-5) não foram observadas alterações histológicas na região laminar do casco. No Bovino 7 observava-se hemorragia, fibrina e infiltrado neutrofilico nas lâminas dérmicas (córion laminar). No Bovino 8 havia hiperplasia leve no topo das lâminas epidérmicas com queratinização irregular e permanência dos núcleos. Havia hiperplasia epitelial multifocal leve no topo das lâminas epidérmicas no casco do Bovino 9 e no casco do Bovino 6, várias lâminas epidérmicas estavam encurtadas com fusão distal de queratina laminar irregular (flocular) (Fig.11). Nessa área, as lâminas epidérmicas apresentavam hiperplasia epitelial com vacuolização associada a queratina irregular e persistência de

núcleos. Havia ausência de formação abrupta de queratina no interior das lâminas epidérmicas. O córion laminar apresentava dilatação dos vasos, edema e neutrófilos perivasculares.

Não foram encontradas alterações histológicas nos esôfagos dos Bovinos 6, 8 e 9, a não ser cistos de *Sarcocystis* sp nas fibras da camada de músculo esquelético. Os demais bovinos mostravam vários graus de necrose epitelial e inflamação. Essas lesões eram mais pronunciadas no terço final do esôfago. De modo geral havia áreas focalmente extensas de perda total do epitélio expondo tecido de granulação infiltrado por neutrófilos e células mononucleares (Fig.12). Nas áreas com epitélio remanescente havia vacuolização e atrofia do epitélio com exocitose neutrofilica. Sobre o tecido de granulação observavam-se bactérias e fibrina. No Bovino 4 observaram-se ainda numerosos trombos em vasos da lâmina própria. No Bovino 5 havia uma úlcera focalmente extensa com tecido de granulação imaturo, contínua com áreas de epitélio delgado (reepitelização). Abaixo da área reepitelizada havia pequenas áreas com fibrina e tecido de granulação. Em todos os casos observavam-se cistos de *Sarcocystis* sp nas fibras da camada de músculo esquelético.

Úlceras focais ou focalmente extensas foram observadas na mucosa do abomaso dos Bovinos 1, 2 e 5. No Bovino 2, a ulceração focalmente extensa invadia a submucosa e era associada a colônias bacterianas. Hiperemia difusa e moderada foi anotada na mucosa do abomaso do Bovino 3. Na região cranioventral dos pulmões dos Bovinos 1 e 6 havia fibras vegetais nos bronquíolos, congestão moderada dos septos alveolares, edema e discreto infiltrado inflamatório misto. A presença de fibras no pulmão foi interpretada como um evento terminal ou mesmo um artefato de ocorrência pós-mortal. No rim do Bovino 4 havia grande quantidade de cilindros hialinos e granulosos no interior dos túbulos da cortical e medular. Vários desses túbulos estavam degenerados e alguns poucos apresentam regeneração do epitélio e infiltrado linfoplasmocitário multifocal na junção córtico-medular.

Hifema e hipópion foram observados respectivamente nos globos oculares do Bovino 2 e 9. Lesões no encéfalo ocorreram em seis novilhos (Bov. 1-3, 5-7). Em todos os seis casos a lesão era focal, simétrica, restrita ao bulbo, na altura do óbex, e afetava a substância branca dorsolateral à área postrema e partes do núcleo dorsal do vago e do núcleo do nervo hipoglosso. A lesão consistia de rarefação desses núcleos por degeneração neuronal e edema. Em 4 desses casos (Bov. 1, 2, 5 e 6) havia substituição da neurópila por agregados de células *Gitter* (Fig.13). No encéfalo dos bovinos 4, 8 e 9 não foram encontradas alterações histológicas.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* nos bovinos das Propriedades A e B baseou-se em dados epidemiológicos (época do ano e acesso irrestrito dos bovinos a bosques de eucalipto que continham grande quantidade do cogumelo), clínicos (principalmente salivação excessiva, afrouxamento e perda dos pêlos longos da cauda, alisamento da superfície dorsal da língua com ocasional ulceração, afrouxamento do estojo córneo dos chifres, hipópion, hifema e opacidade da córnea) e patológicos (confirmação das lesões orais e tegumentares e esofagite fibrinonecrótica). Esses dados são bastante característicos da intoxicação por *R. flavo-brunnescens* em bovinos (Bauer et al. 1966, Freitas et al. 1966, Quinões-Sowerby 1973, Santos et al. 1975, Paschoal et al. 1983, Zurbriggen et al. 1985, Kommers & Santos 1995). As taxas de morbidade, mortalidade e letalidade foram respectivamente 50, 25 e 50% na propriedade A e 4,4, 2,5 e 67,1% na Propriedade B o que é esperado para a toxicose.

É reconhecido que a toxidez do cogumelo *R. flavo-brunnescens* pode variar de ano a ano (Sallis et al. 2000, Sallis et al. 2004) e tem sido relatado que a intoxicação é comum após verões com estiagem seguidos de fortes chuvas (Paschoal et al. 1983, Zurbriggen et al. 1985, Tokarnia et al 2000). Nos surtos da doença aqui relatados observou-se que a quantidade de *R. flavo-brunnescens* nos bosques de eucalipto era maior que nos 3-4 anos que antecederam os surtos e que a ocorrência da doença coincidiu com um período de fortes chuvas no outono que se seguiram a acentuada estiagem no verão.

Os achados hematológicos encontrados em dois novilhos deste estudo não são específicos, mas indicam inflamação subaguda. Sinais indicativos de inflamação aguda em bovinos incluem aumento na quantidade de neutrófilos segmentados (neutrofilia), que leva à inversão da relação linfócitos:neutrófilos, e aumento no número de bastonetes e/ou células precursoras menos diferenciadas, como metamielócitos e mielócitos (desvio à esquerda regenerativo). Essas alterações são frequentemente observadas em diferentes doenças inflamatórias de caráter agudo e se mantêm por alguns dias, dependendo do agente etiológico e do tipo de injúria. Inflamações crônicas caracterizam-se por aumento na quantidade de monócitos e, em alguns casos, por linfocitose, principalmente quando resulta da infecção por microorganismos que causam estimulação antigênica persistente. Inflamações subagudas, como as observadas nos bovinos destes surtos, são vistas hematologicamente como desvio à esquerda associado ou não a monocitose (Kramer 2000).

As lesões de malacia focal simétrica encontradas no bulbo de 6 dos 9 novilhos necropsiados não tinham ainda sido relatadas em associação com a toxicose por *R. flavo-brunnescens*; em um relato (Freitas et al. 1966) degeneração neuronal e cromatólise são descritas no tronco encefálico de bovinos afetados pela toxicose, mas malacia focal não é mencionada. Embora não seja possível afirmar de forma definitiva que as lesões de malacia focal simétrica encontradas em nossos casos foram causadas pela(s) toxina(s) presentes no cogumelo, é improvável que a alta percentagem (66,6%) dos bovinos necropsiados com a lesão seja apenas coincidência. Além disso, durante o exame rotineiro de 3.378 encéfalos de bovinos, utilizando a mesma metodologia, na rotina do LPV/UFSM durante os últimos 4 anos, nenhuma lesão semelhante foi observada nessa localização anatômica. Embora não se tenha observado nenhum sinal clínico de distúrbio nervoso associado a essas lesões nos bovinos desse relato, deve ser considerado que o exame clínico desses animais foi bastante superficial. Retrospectivamente, é possível inferir que o alto índice de miíases na comissura labial seja reflexo de déficits de nervos cranianos (por ex., nervo hipoglosso) que impediam o animal lambar os ferimentos nessa região. Sinais clínicos neurológicos como ataxia, tremores musculares e convulsões são relatados em ovinos em que os sinais clínicos eram associados a congestão e hemorragias perivasculares, principalmente nos colículos mesencefálicos e no cerebelo (Sallis et al. 2000). Congestão, edema, tumefação endotelial e hemorragia perivascular são estágios iniciais na malacia focal simétrica que ocorre em suínos intoxicados com sementes de *Aeschynomene indica* (Oliveira et al. 2005). A susceptibilidade de determinados locais do sistema nervoso central para malacia é bastante conhecida (Innes & Saunders 1962) e focos de malacia simétricos ocorrem em animais, associados a outras intoxicações e toxinfecções. Essas incluem a ingestão de plantas do gênero *Centaurea* em eqüinos (Cordy 1978), doença do edema de suínos (Kurtz et al. 1969), toxifecção pela toxina de *C. perfringens* tipo D em ovinos (Buxton et al. 1978) e intoxicação por selênio em suínos (Harrison et al. 1983, Casteel et al. 1985). Essas semelhanças sugerem uma natureza vascular para as lesões do encéfalo dos novilhos deste estudo.

As lesões causadas pela(s) toxina(s) de *R. flavo-brunnescens* em ovinos foram atribuídas à isquemia resultante do espessamento da musculatura (miopaquínse) e degeneração do endotélio de arteríolas (Sallis et al. 2000), algo semelhante ao que é descrito no ergotismo (Coppock et al. 1989). À miopaquínse seguir-se-ia degeneração, necrose e ulceração dos epitélios (Sallis et al. 2000). Em nenhum dos nove novilhos deste relato se observaram lesões vasculares semelhantes às descritas em associação ao ergotismo (Coppock et al. 1989) e ou à intoxicação por *R. flavo-brunnescens* em ovinos (Sallis et al. 2000). A patogênese das lesões

encontradas nos novilhos deste relato parece se enquadrar mais ao que já foi descrito para bovinos (Kommers & Santos 1995). Esses últimos autores demonstraram que as alterações histopatológicas são mais acentuadas onde ocorre o processo de queratinização dura, onde há uma alta percentagem de aminoácidos ricos em enxofre, como a cistina, envolvidos no processo de queratinização; é sugerido que na intoxicação por *R. flavo-brunnescens* ocorra um distúrbio do metabolismo de proteínas com alto teor de enxofre, presentes nos queratinócitos. Isso resultaria na perda da estabilidade nas ligações moleculares da queratina dura e, conseqüentemente, no afrouxamento dos cascos, pêlos e chifres e na atrofia das papilas linguais. Essa hipótese parece bastante plausível quando se considera que as lesões tegumentares encontradas em bovinos intoxicados por *R. flavo-brunnescens* são semelhantes às da intoxicação crônica por selênio em bovinos (O'Toole & Raibek 1995). Na intoxicação crônica por selênio, conhecida também como *alkali disease*, é proposto que, devido à semelhança entre os elementos selênio e enxofre, ocorra a substituição do enxofre pelo selênio nos resíduos de cisteína (que formariam uma molécula de cistina) das proteínas com alto teor de enxofre, levando a um afrouxamento das ligações cruzadas das pontes dissulfeto (O'Toole D. & Raibek 1995). A semelhança morfológica entre a intoxicação por *R. flavo-brunnescens* e a *alkali disease* explica o fato do mal do eucalipto ter sido inicialmente atribuído à intoxicação por selênio (Barros 1958).

A intoxicação por *R. flavo-brunnescens* em bovinos tem sido confundida com a febre aftosa (FA) devido a sialorréia e lesões da língua, semelhantes nas duas doenças (Bauer et al. 1966, Freitas et al. 1966, Zurbriggen et al. 1985, Rech et al. 2005). O diagnóstico diferencial com a FA é particularmente importante e não apresenta grandes dificuldades. A intoxicação por *R. flavo-brunnescens* está sempre associada ao acesso dos bovinos a bosques de eucalipto no período de outono, não está associada à formação de vesículas na língua (presentes na FA), causa alisamento da superfície dorsal da língua por atrofia das papilas filiformes (lesão ausente na FA) e apresenta taxas de morbidade mais baixas e de mortalidade mais altas que a FA, embora alguns relatos da intoxicação por *R. flavo-brunnescens* indiquem uma morbidade de 90% (Freitas et al. 1966).

REFERÊNCIAS

- Barros S.S. 1958. Da possível incidência da toxicose pelo selênio em bovinos no Rio Grande do Sul. *Dipan*, Porto Alegre, 11:10-13.

- Bauer A.G., Laranja R.J. & Santos A.G. 1966. Sobre a etiologia do chamado “Mal do Eucalipto”. Arqs Inst. Vet. Desidério Finamor, Porto Alegre, 3:85-90.
- Buxton D., Linklater K.A. & Dyson D.A. 1978. Pulpy kidney disease and its diagnosis by histological examination. Vet. Rec. 102:241.
- Casteel S.W., Osweiler G.D., Cook W.O., Daniels G. & Kadlec R. 1985. Selenium toxicosis in swine. J. Am. Vet. Med. Assoc. 186:1084-1085.
- Coppock E.W., Mostrom M.S., Simon J., McKenna D.J., Jacobsen B. & Szlachta H.L. 1989. Cutaneous ergotism in a herd of dairy calves. J. Am. Vet. Med. Assoc. 194:549-551.
- Cordy D.R. 1978. *Centaurea* species and equine nigropallidal encephalomalacia, p.327-336. In: Keeler R.F., Van Kampen K.R. & James L.F. (ed.) Effects of Poisonous Plants on Livestock. Academic Press, New York. 600p.
- Fidalgo O. & Fidalgo M.E.P.K. 1970. A poisonous *Ramaria* from southern Brazil. Rickia 5:71-91.
- Freitas J., Pasturino C.L., Quiñones-Sowerby C.A., Bellagamba C., Giambruno E., Infantozzi J.M., Decia J.C. & Cervenanzky W. 1966. Comunicacion sobre una enfermedad aparecida em ganados del Uruguay em los últimos anos (Bocopa). 5º Congr. Panamericano Med. Vet. y Zootecnia, Caracas, p.152-159.
- Harrison L.H., Colvin B.M., Stuart B.P., Sangster L.T, Gorgacz E.J. & Gosser H.S. 1983. Paralysis in swine due to focal symmetrical poliomalacia: possible selenium toxicosis. Vet. Pathol. 20:265-273.
- Innes J.R.M. & Saunders L.Z. 1962. Encephalomalacia and myelomalacia, p.607-609. In: Ibid (ed.) Comparative Neuropathology. Academic Press, New York. 839p.
- Kommers G.D. & Santos M.N. 1995. Experimental poisoning of cattle by the mushroom *Ramaria flavo-brunnescens* (Clavariaceae): A study of the morphology and pathogenesis of lesions in the hooves, tail, horns and tongue. Vet. Human Toxicol. 37:297-302.

- Kramer J.W. 2000. Normal hematology in cattle, sheep and goat, p.1075-1084. In: Feldman B.F., Zinkl J.G. & Jain N.C. (ed.) Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 1344p.
- Kurtz H.J., Bergeland M.E. & Barnes D.M. 1969. Pathologic changes in edema disease of swine. Am. J. Vet. Res. 30:791-806.
- O'Toole D. & Raibek M.S. 1995. Pathology of experimentally induced chronic selenosis (alkali disease) in yearling cattle. J. Vet. Diagn. Invest. 7:364-373.
- Oliveira F.N., Rech R.R., Rissi D.R., Barros R.R. & Barros C.S.L. 2005. Intoxicação em suínos pela ingestão de sementes de *Aeschynomene indica* (Leg.Papilionoideae) Pesq. Vet. Bras. 25:135-142.
- 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.
- Prucoli O. & Camargo W.V.A. 1965/66. Intoxicação experimental em ovinos com *Clavaria* spp. Bolm Ind. Animal, Nova Odessa, 23:177-178.
- Quinõnes-Sowerby C.A. 1973. Bocopa. Bolsa del Livro de la Facultad de Veterinaria Montevideo, p.1-13.
- Rech R.R., Schild A.L., Driemeier D., Garmatz S.L., Oliveira F.N., Riet-Correa F. & Barros C.S.L. 2005. Febre catarral maligna em bovinos no Rio Grande do Sul: epidemiologia, sinais clínicos e patologia. Pesq. Vet. Bras. 25:97-105.
- Riet-Correa F., Barros C.S.L. & Schild A.L. 2001. Intoxication by *Ramaria flavo-brunnescens* in domestic animals, p. 488-493. In: Acamovic T., Stewart C.S. & Pennycott T.W.(ed.) Poisonous Plants and Related Toxins. CAB International, Londres. 586p.
- Riet-Correa F., Schild A.L., Méndez M.C., Oliveira J.A., Gil Turnes C. & Gonçalves A. 1983. Relatório de Atividade e Doenças da Área de Influência do Laboratório Regional de Diagnóstico no Período 1978/1982. UFPel, Pelotas, RS, p.54-55.

- Rozza D.B., Spagnol C., Silva E.B., Callado A.C.C., Oliveira E.C. & Driemeier D. 2004. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em búfalos. *Pesq. Vet. Bras.* 24(Supl.):56-57.
- Sallis E.S.V., Raffi M.B. & Riet-Correa F. 2004. Intoxicação experimental em ovinos com *Ramaria flavo-brunnescens* congelada ou dessecada. *Pesq. Vet. Bras.* 24:107-110.
- 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.* 42:321-324.
- Santos M.N. 1993. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens*, p.309-318. In: Riet-Correa F., Méndez M.C. & Schild A.L. (ed.) *Intoxicações por Plantas e Micotoxicoses em Animais Domésticos*. Editorial Agropecuária Hemisfério Sul do Brasil, Pelotas. 340p.
- 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.
- Stöber M. 1990. Identificação, anamnese, regras básicas da técnica de exame clínico geral, p.44-80. In: Dirksen G., Gründner H.-D. & Stöber M. (ed.) *Rosenberger Exame Clínico dos Bovinos*. 3^a ed. Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro. 418p.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Peixoto P.V. 2000. *Plantas Tóxicas do Brasil*, p.206-209. Editora Helianthus, Rio de Janeiro. 310p.
- Zurbriggen M.A., Homse A.C., Rochinotti D., Somma de Fere G.R., Draghi de Benitez M.G., Báez Kohn A.R., Vanzini V.R. & Soni C.A. 1985. Mal des los eucaliptales. *Vet. Argent.* 12:273-281.

Fig. 1. Espécime do cogumelo *Ramaria flavo-brunnescens* que era abundante no solo dos matos de eucalipto das duas propriedades onde ocorreram os surtos da intoxicação. O cogumelo é algo semelhante a uma couve-flor, amarelo-alaranjado e tem o ciclo de vida entre fevereiro e junho. Foto tomada em maio de 2005 na Propriedade B.

Fig. 2. Índices de precipitação pluviométrica mensal no Rio Grande do Sul. Dados tomados de janeiro de 2002 até setembro de 2005. As barras pretas representam os meses de verão (dezembro-fevereiro). Observe que no verão de 2004/05 houve uma forte estiagem seguida de elevada precipitação pluviométrica nos meses de abril e maio, quando ocorreram os surtos de intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em bovinos. Fonte: Estação Climatológica do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria.

Fig. 3. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em bovinos. Bovino 8 com sialorréia.

Fig. 4. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em bovinos. Perda dos pêlos longos da cauda do Bovino 6.

Fig. 5. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em bovinos. Afrouxamento do estojo córneo do chifre esquerdo do Bovino 9.

Fig. 6. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em bovinos. Bovino 2 com atrofia das papilas linguais e conseqüente alisamento da superfície dorsal da língua (ver Fig. 10)

Fig. 7. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em bovinos. Uma úlcera arredondada e deprimida com aproximadamente 3 cm de diâmetro aparece na superfície dorsal do ápice da língua do Bovino 5. A úlcera está recoberta por coágulos de sangue.

Fig. 8. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em bovinos. Bovino 4. No terço distal do esôfago a mucosa está ulcerada e recoberta por exsudato fibrinonecrótico.

Fig. 9. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em bovinos. Histopatologia da pele da extremidade da cauda do Bovino 9. **A.** Moderada hiperqueratose ortoqueratótica. Os folículos pilosos apresentam espessa camada de queratina tricolemal, formando tampões de queratina. HE, obj. 20. **B.** Folículo piloso da derme superficial em fase telogênica com contorno irregular e espessamento da bainha radicular fibrosa. HE, obj. 40. **C.** Na luz folicular há detritos necróticos associados à queratina; ao redor do folículo piloso há infiltrado mononuclear composto por linfócitos e macrófagos. HE, obj. 40.

Fig. 10. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em bovinos. Histopatologia da língua do Bovino 4. O epitélio está mais delgado que o normal e há desaparecimento (atrofia) das papilas filiformes. Na lâmina própria observa-se tecido de granulação imaturo, infiltrado por neutrófilos, macrófagos, linfócitos e plasmócitos e incontinência pigmentar. HE, obj. 40.

Fig. 11. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em bovinos. Região laminar do casco. A. Aspecto histológico normal. B. Bovino 6. Várias lâminas epidérmicas estão encurtadas com fusão distal de queratina laminar irregular (flocular). As lâminas epidérmicas apresentam hiperplasia epitelial e ausência de formação abrupta de queratina no interior das lâminas. HE, obj. 20.

Fig. 12. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em bovinos. Histopatologia do esôfago do Bovino 2. Mucosa íntegra à esquerda. Área focalmente extensa de perda total do epitélio à direita com exposição de lâmina própria substituída por tecido de granulação infiltrado predominantemente por neutrófilos e macrófagos HE, obj. 20.

Fig. 13. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em bovinos. Bovino 2. Bulbo na altura do óbex. A. Aspecto submacroscópico mostrando duas áreas focais simétricas de malacia (setas). HE, obj. 2,5. B. Maior aumento da área de malacia mostrada em A. HE, obj. 20. Detalhe: borda da lesão mostrando acúmulo de células *Gitter*. HE, obj. 40. C. Rarefação do núcleo dorsal do vago com degeneração neuronal e edema. Há um manguito de células *Gitter* em vaso na parte central superior da foto. Neste caso, o espaço perivascular atua como vaso linfático drenando os macrófagos espumosos (células *Gitter*) que contêm detritos fagocitados do foco de necrose. HE, obj. 40.

4 DISCUSSÃO

Todos os surtos da intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em animais de produção ocorrem devido à entrada prévia dos animais em bosques de eucalipto onde havia grande quantidade do cogumelo. A enfermidade ocorre no outono ou verão, coincidindo com o ciclo de *R. flavo-brunnescens* (FREITAS et al., 1966; SANTOS et al., 1975; PASCHOAL et al., 1983; TOKARNIA et al., 2000), como é o caso desse relato, embora exista um relato dessa intoxicação na primavera (QUINÕES-SOWERBY, 1973). O princípio ativo de *R. flavo-brunnescens* é desconhecido, mas sugere-se que seja um um alcalóide termolábil e bastante volátil (SALLIS et al., 2004). Isso, em parte, explica porque a intoxicação é mais grave nos casos espontâneos. Provavelmente, ocorra perda do princípio ativo entre a colheita do cogumelo e sua administração aos animais do experimento.

As impressões do Dr. Nicanor Carlos Spreckelsen (NCS) transcritas no livro Fundação e Evolução das Estâncias Serranas (GOMES, 1966), nos parecem bastante precisas para os recursos diagnósticos à disposição de veterinários no município de Tupanciretã em meados da década de 50, no século passado. Algumas considerações devem ser feitas sobre essas observações. Primeiro, a participação do ergotismo na causa do mal do eucalipto (em páginas subseqüentes, NCS corrige o engano do técnico australiano C. W. Strutt em associar o ergotismo a *Claviceps paspali* e menciona *C. purpurea* como o fungo que causa a lesão) voltou a ser considerada na década de 1970 (PERUSIA & RODRIGUEZ, 1973), que definem a intoxicação por *R. flavo-brunnescens* como de “características gangrenosas”, inclusive com necrose da ponta da cauda. Em relação à intoxicação em ovinos, descrevem-se espessamento da muscular de arteríolas (lesão denominada miopaquinse) e degeneração de células endoteliais e trombose ocasional (SALLIS et al., 1993; 2000). Essas alterações seriam responsáveis por isquemia e conseqüente gangrena seca das extremidades, algo semelhante ao que acontece no ergotismo. É interessante também ressaltar que em búfalos foi descrita a intoxicação por *R. flavo-brunnescens* associada à necrose da ponta das orelhas e da cauda (ROZZA et al., 2004). No entanto, na intoxicação em bovinos, essas lesões vasculares (miopaquinse, degeneração vascular e trombose) e necrose da ponta da cauda não têm sido verificadas e parecem não ter participação na patogênese da lesão nessa espécie. Além disso, na patogênese do ergotismo é sugerido que a estimulação sistêmica do músculo liso da túnica média resulte em miopaquinse de vários órgãos como áreas profundas da derme, pulmões, rins, submucosa do intestino delgado, baço e miocárdio (COPPOCK et al., 1989). O segundo

ponto a considerar nos comentários de NCS é a afirmação de que “a ocorrência da doença é verificada em determinadas épocas do ano e outonos chuvosos, segundo observação geral, é favorável ao seu aparecimento e intensidade”, Isso corresponde ao que foi encontrado no nosso estudo (BARROS et al., 2006, *ver* Fig. 2) que relata a ocorrência dos surtos após uma estiagem de verão, seguida por precipitação pluviométrica acentuada. O fato de que chuvas fortes favorecem o aparecimento da intoxicação já foi mencionado na literatura (PASCHOAL et al., 1983; ZURBRIGGEN et al., 1985; TOKARNIA et al., 2000). E, finalmente, a descrição de NCS de que “nos eqüinos verificamos, apenas, queda das crinas, pêlos da cauda e lesões dos cascos, que se traduzem pela formação de um sulco circular próximo à coroa” corresponde ao que observamos em um eqüino em maio-junho de 2005. Esse animal apresentava queda de pêlos da cauda (Figura 1), das crinas (Figura 2), e dos pêlos; um sulco em forma de círculo aparecia próximo ao rodete coronário (Figura 3). O estudo radiológico de projeções lateromedial e dorsopalmar dos membros torácicos revelaram distanciamento entre o processo extensor da terceira falange e a banda coronária; esse achado é compatível com deslocamento distal da coluna óssea. O córtex dorsal da terceira falange não se encontra alinhado com o aspecto dorsal da muralha do casco, indicando rotação da terceira falange (Figura 4). No membro torácico esquerdo a muralha apresenta 55° em relação ao solo e a terceira falange aproximadamente 68° em relação ao solo. No membro torácico direito esses valores são 50° e 65°. Em ambos os posicionamentos radiográficos nota-se uma banda radiopaca com largura aproximada de 2,5 cm, sugestiva de distúrbio da queratinização das camadas do casco. Nas projeções dorsopalmares observa-se que essa banda radiopaca estende-se de um talão ao outro na altura do terço médio da muralha do casco (Figura 5). Essa lesão corresponde ao sulco em forma de círculo mostrado na Figura 3. Os achados radiológicos indicam degeneração laminar bilateral dos membros torácicos.

Em alguns animais deste e de outros casos de intoxicação por *R. flavo-brunnescens* (xxxxx) em bovinos tem sido relatada uma pigmentação amarelada ao redor dos olhos e do pescoço (e também nos dentes, nos nossos casos).

Os dados epidemiológicos, clínicos e anatomopatológicos são semelhantes ao que já foi descrito para a intoxicação por *R. flavo-brunnescens* em bovinos, porém as lesões de malacia focal simétrica relatadas no tronco encefálico de seis dos nove bovinos não tinham sido ainda associadas à intoxicação por *R. flavo-brunnescens*. Em um relato (FREITAS et al., 1966), degeneração neuronal e cromatólise são descritas no tronco encefálico de bovinos afetados pela toxicose, mas malacia focal não é mencionada.

Em dois novilhos deste estudo (Bovinos 2 e 3) foram realizados estudos ultra-estruturais. Os resultados da microscopia eletrônica indicam que os queratinócitos da camada espinhosa do epitélio da língua revelavam diminuição dos tonofilamentos (Figura 6), quando comparados aos queratinócitos da mesma região de um bovino normal (Figura 7). Foi verificado também, nessa região, acentuada dilatação dos espaços intercelulares ocasionalmente preenchidos por material finamente granular. Os desmossomos estavam íntegros.

Figura 1 – Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em eqüino. **A.** Perda de pêlos da cauda. **B.** Maior aproximação de A

Figura 2 – Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em eqüino. Perda de pêlos das crinas.

Figura 3 – Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em eqüino. Observa-se sulco circular no casco, próximo ao rodete coronário.

Figura 4 – Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em eqüino. Aspecto radiológico, projeção lateromedial do membro torácico direito. Rotação da terceira falange, indicada pela imagem do córtex dorsal da terceira falange desalinhado com o aspecto dorsal da muralha do casco. Uma área radiopaca com largura aproximada de 2,5 cm aparece logo abaixo do rodete coronário.

Figura 5 – Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em eqüino. Aspecto radiológico, projeção dorsoplantar do membro torácico direito. Observa-se uma banda radiopaca, que se estende de um talão ao outro, na altura do terço médio da muralha do casco. Essa lesão corresponde ao sulco em forma de círculo mostrado na Figura 3 e à área radiopaca mostrada na projeção lateromedial da Figura 4.

Figura 6 – Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens*. **A.** Bovino controle mostrando a distribuição normal dos tonofilamentos nos queratinócitos da camada espinhosa do epitélio da língua. Observar a ausência de grânulos de querato-hialina. Barra = 2 μ m.

Figura 7 – Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens*. Bovino 2, intoxicado espontaneamente por *Ramaria flavo-brunnescens*. Observa-se diminuição dos tonofilamentos nos queratinócitos da camada espinhosa do epitélio da língua, dilatação dos espaços intercelulares e presença de acúmulos de um material finamente granular (seta). Observa-se também dilatação excêntrica da cisterna perinuclear (cabeça de seta). Barra = 2 μ m.

5 CONCLUSÕES

1. Bovinos intoxicados espontaneamente por *Ramaria flavo-brunnescens* desenvolvem focos simétricos de malacia no tronco encefálico, especificamente na medula oblonga.
2. Os sinais clínicos, hematológicos e anatomopatológicos desenvolvidos por bovinos intoxicados espontaneamente por *R. flavo-brunnescens* incluem depressão, perda de peso, desidratação, salivação excessiva, afrouxamento e perda dos pêlos longos da cauda, alisamento da superfície dorsal da língua com ocasional ulceração, afrouxamento do estojo córneo dos chifres, hipópion, hifema, opacidade da córnea, leucocitose e esofagite fibrinonecrótica.
3. As alterações histopatológicas desenvolvidas por bovinos intoxicados espontaneamente por *R. flavo-brunnescens* incluem alterações tegumentares que sugerem distúrbios da queratinização.
4. Os achados ultra-estruturais no epitélio da língua bovinos intoxicados espontaneamente por *R. flavo-brunnescens* incluem diminuição dos tonofilamentos e dilatação dos espaços intercelulares.
5. Os sinais clínicos em eqüino intoxicado espontaneamente por *R. flavo-brunnescens* incluem queda das crinas, dos pêlos da cauda e depressão em forma circular da porção córnea próxima ao rodete coronário.
6. Os achados radiológicos em eqüino intoxicado espontaneamente por *R. flavo-brunnescens* indicam degeneração laminar (lâminas dos cascos) bilateral dos membros torácicos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANÔNIMO. Eucalipto parece não ser boa companhia. **Dirigente Rural**, v.2, p.47, 1963.
- ANÔNIMO. Gaúcho já descobriu muito sobre o mal-do-eucalipto. **Dirigente Rural**, v.5, p.61-64, 1965.
- BARROS, S.S. Da possível incidência da toxicose pelo selênio em bovinos no Rio Grande do Sul: **Dipan**, v.11, p.10-13, 1958.
- BARROS, R.R. et al. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* (Clavariaceae) em bovinos. **Pesq. Vet. Bras.**, 2006 (no prelo).
- BAUER, A.G. et al. Sobre a etiologia do chamado “Mal do Eucalipto”. **Arqs Inst. Vet. Desidério Finamor**, v.3, p.85-90, 1966.
- COPPOCK, E.W. et al. Cutaneous ergotism in a herd of dairy calves. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.194, p.549-551, 1989.
- DÖBEREINER J. Relatório de viagem de pesquisa, (Embrapa-UAPNPSA, km 47, Rio de Janeiro), 1981, 2p. (Datilografado)
- FIDALGO, O.; FIDALGO, M.E.P.K. A poisonous *Ramaria* from southern Brazil. **Rickia**, v.5, p.71-91, 1970.
- FREITAS, J. et al. 1966. Comunicacion sobre uma enfermedad aparecida em ganados del Uruguay em los últimos anos (Bocopa). In: CONGRESSO PANAMERICANO DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, 5., 1966, Caracas. **Anais...** Caracas: 1966. p. 152-159.
- GOMES, A.M. Técnicas, pestes e doenças. In: _____ **Fundação e Evolução das Estâncias Serranas**. Cruz Alta: Liderança, 1966. p.225-234.
- KOMMERS, G.D.; SANTOS, M.N. Experimental poisoning of cattle by the mushroom *Ramaria flavo-brunnescens* (Clavariaceae): A study of the morphology and pathogenesis of lesions in the hooves, tail, horns and tongue. **Vet. Human Toxicol.**, v.37, p.297-302, 1995.
- MAGALHÃES, H.M. et al. DL₅₀ do extrato aquoso do fungo *Ramaria flavo-brunnescens* para acmundongos. **Rev. Centro de Ciências Rurais**, v.5, p.131-134, 1975.
- O'TOOLE, D.; RAISBECK, M.S. Pathology of experimentally induced chronic selenosis (alkali disease) in yearling cattle. **J. Vet. Diagn. Invest.**, v.7, p.364-373, 1995.
- PARREIRA V.F. Mal do eucalipto em Uberlândia. **Seminário de Clínica**, Univ. Fed. de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1978. 4p.
- PASCHOAL, J.P. et al. Ocorrência do "mal do eucalipto" em bovinos no estado de São Paulo. **Arqs. Inst. Biológico**, v.49, p.15-18, 1983.

PERUSIA, O.R.; RODRIGUEZ, A R. Plantas Tóxicas y Micotoxinas. **Cuadernos de Divulgación Técnica**, n.4, 1992.

QUINONES-SOWERBY, C.A. Bocopa. **Bolsa del Livro de la Facultad de Veterinária**, p.1-13, 1973.

RADOSTITS, O.M. et al. Selenium poisoning. In: _____ **Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses**. 6th ed. London: Baillière Tindall, 1994. p. 1484-1486.

RIET-CORREA, F. et al. **Relatório de Atividade e Doenças da Área de Influência do Laboratório Regional de Diagnóstico no Período 1978/1982**. UFPel, Pelotas, RS, p. 54-55, 1983.

RIET-CORREA, F. et al. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em bovinos. **Laboratório Regional de Diagnóstico. Doenças diagnosticadas no ano de 1984**. Pelotas: Editora Universitária, 1985. p.28-29.

RIET-CORREA F. et al. Intoxication by *Ramaria flavo-brunnescens* in domestic animals. In: ACAMOVIC T., STEWART C.S., PENNYCOTT T.W. **Poisonous Plants and Related Toxins**. Wallingford UK:CAB International, 2004. p.488-493.

ROZZA, D.B. et al. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens* em búfalos. **Pesq. Vet. Bras.**, v.24 (Supl.), p.56-57, 2004.

SALLIS, E.S.V. et al. Intoxicação experimental em ovinos com *Ramaria flavo-brunnescens* congelada ou dessecada. **Pesq. Vet. Bras.**, v.24, p.107-110, 2004.

SALLIS, E.S.V. et al. Experimental intoxication by *Ramaria flavo-brunnescens* in sheep. **N. Zeland Vet. J.**, v.41, p.224, 1993.

SALLIS, E.S.V. et al. Experimental intoxication by the mushroom *Ramaria flavo-brunnescens* in sheep. **Vet. Human Toxicol.**, v.42, p.321-324, 2000.

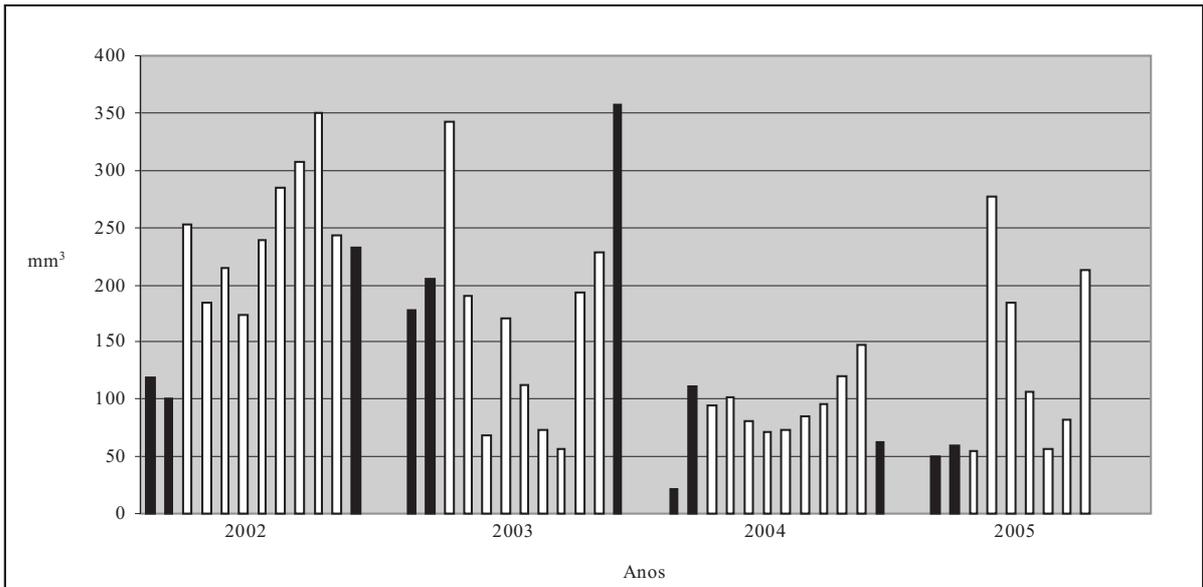
SANTOS, M.N. Intoxicação por *Ramaria flavo-brunnescens*. In: RIET-CORREA, F. et al. **Intoxicações por Plantas e Micotoxicoses em Animais Domésticos**. Pelotas: Editorial Agropecuária Hemisfério Sul do Brasil, 1993. p.309-318.

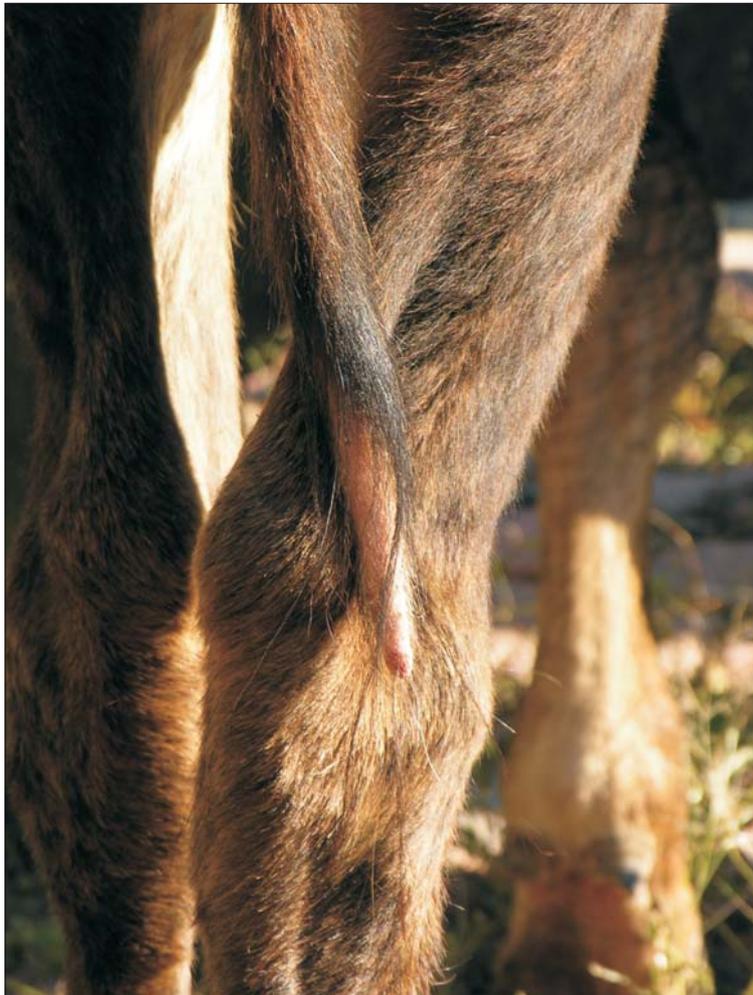
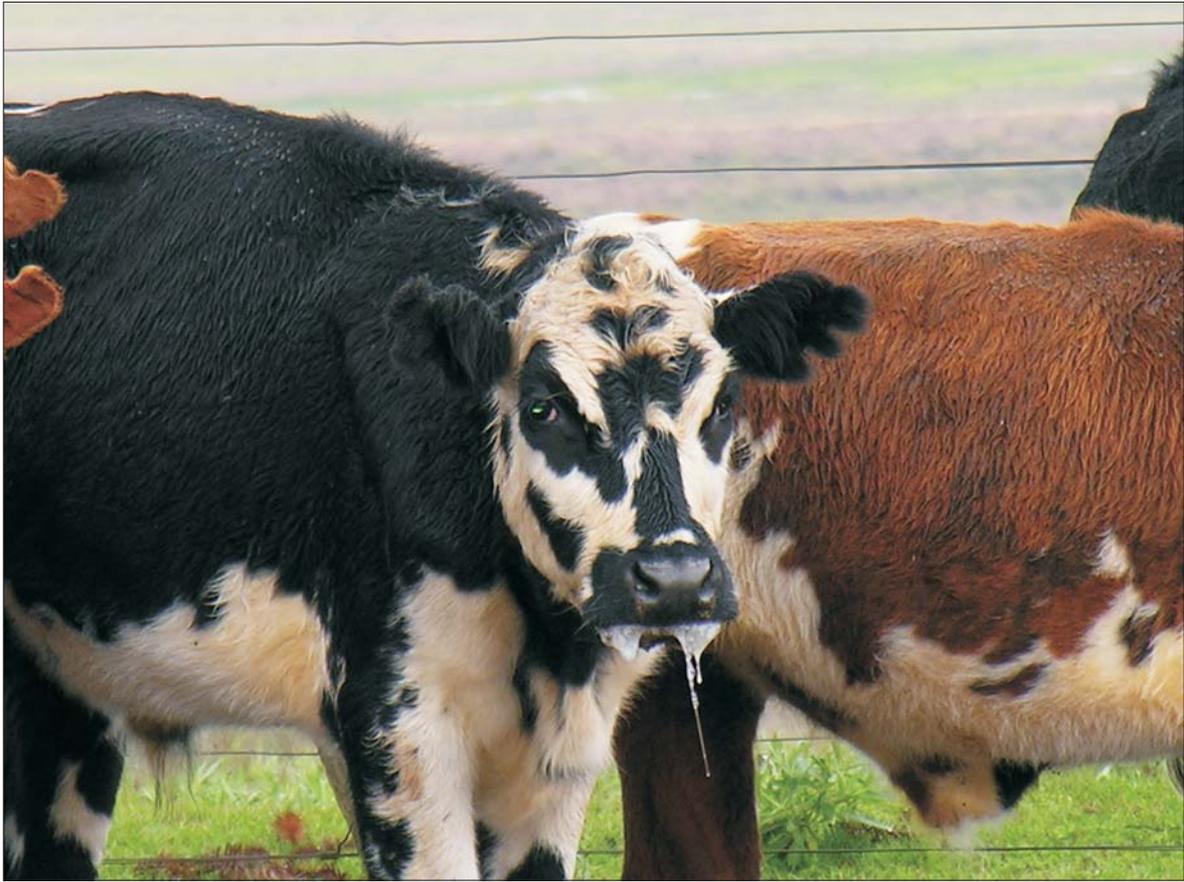
SANTOS, M.N. et al. Intoxicação em bovinos pelo cogumelo *Ramaria flavo-brunnescens*. **Pesq. Agropec. Bras. Sér. Vet.**, v.10, p.105-109, 1975.

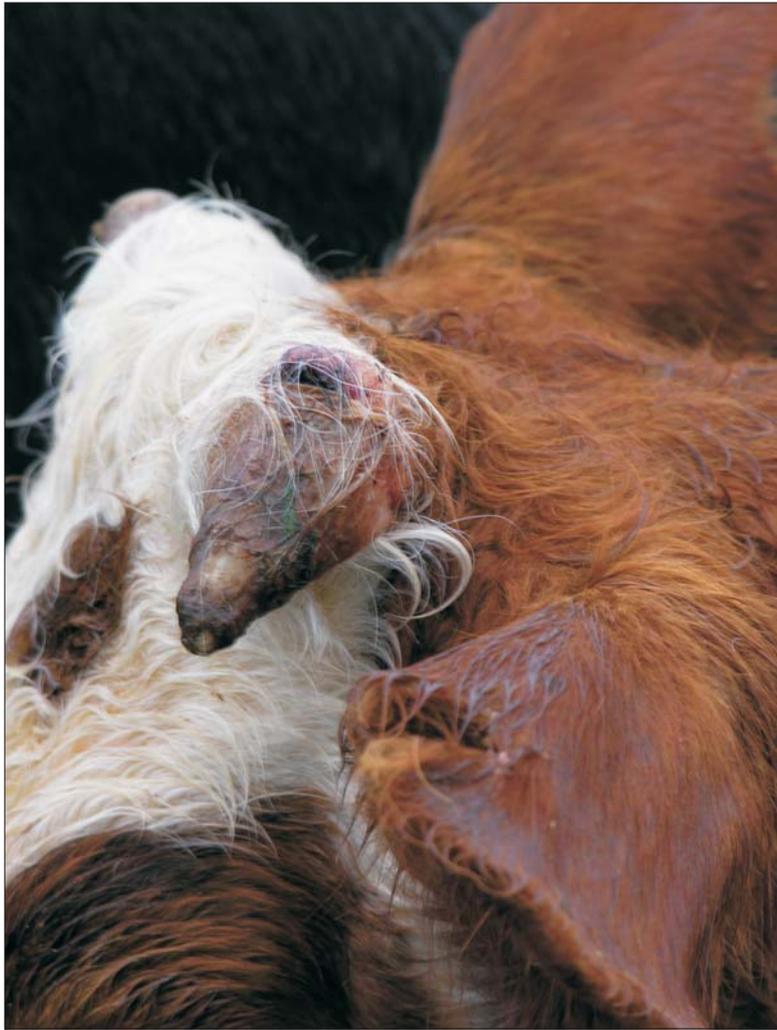
TOKARNIA, C.H. et al. 2000. **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. p. 206-209.

TOLEDO, L.D.; PETERSEN, R.H. 1989. A toxic *Ramaria* species from South America. **Mycologia**, v.81, p.662-664, 1989.

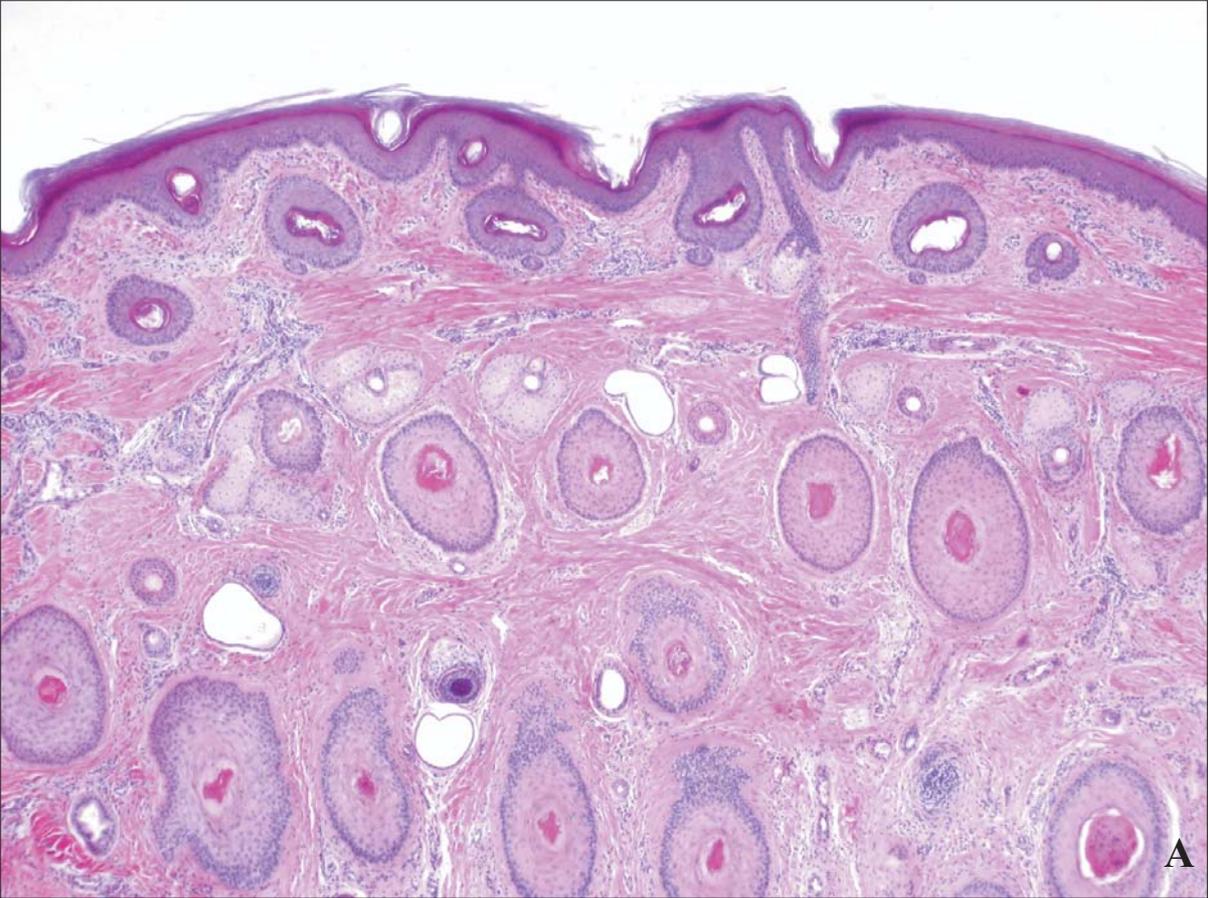
ZURBRIGGEN, M.A. et al. Mal des los eucaliptales. **Vet. Argent.**, v.12, p.273-281, 1985.



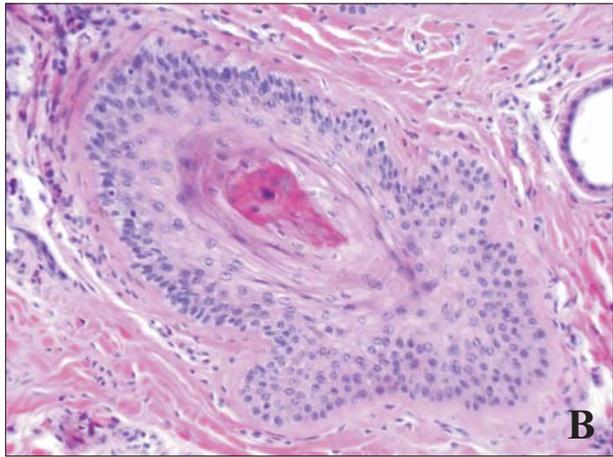




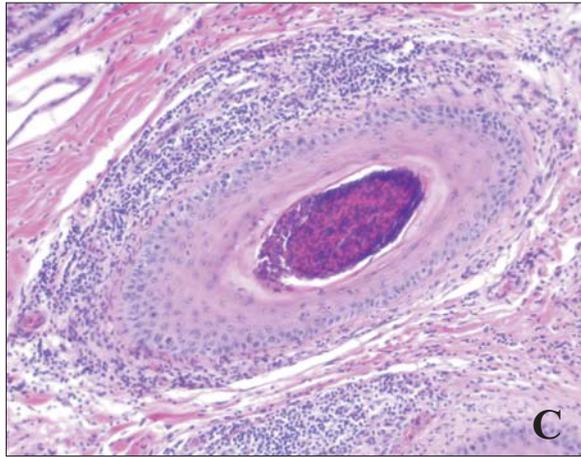




A



B



C

