

L. CIMA & F. CIMA

MECCANISMI D'AZIONE DELLE TOSSINE FUNGINE E POSSIBILITÀ DI COLLEGAMENTO CON GLI INTERVENTI CLINICI

Riassunto - L. CIMA & F. CIMA - Meccanismi d'azione delle tossine fungine e possibilità di collegamento con gli interventi clinici.

La diagnosi differenziale precoce domiciliare ed ospedaliera delle intossicazioni da funghi richiede conoscenze e competenze che spaziano dalla guardia micologica a metodologie di laboratorio, da semplici-rapide e sofisticate-lente, nell'intento di aprire in tempo una finestra terapeutica sufficientemente certa ed ampia, non prima di aver risolto il problema pressante del «se fare e/o non fare». Al di là delle diagnosi di certezza, nei casi di intossicazione dubbia o sospetta, il ricovero può non essere necessario purché ambulatorialmente venga praticato un attento monitoraggio della sintomatologia e del quadro biumorale nel corso del tempo di latenza che rimane l'accertamento diagnostico fondamentale purché non troppo tardivo.

Lo sviluppo delle conoscenze sulle tossine fungine ha tratto notevole impulso da nuovi mezzi di valutazione applicati alla ricerca biochimica e tossicologica molecolare e sistematica. Tuttavia, quando si verifica un'emergenza, alla varietà di tossine - anche se limitata agli otto gruppi di Mitchel (7) [*Classificazione clinico-chimica*: a) *Citolitiche*: 1. ciclopeptidi (amanitine), 2. monometilidrazina (giromitrina); b) *del S.N.V.*: 3. muscarina e muscarinici, 4. coprina; c) *del S.N.C.*: 5. GABA-analoghi (isossazoli), 6. psilocibina e psilocina (indoli); d) *del tratto gastro-intestinale*: 7. citotossine resinoidi; e) *del rene*: 8. ciclopeptidi (orellanina, cortinarina), biperidine] - corrispondono pur sempre possibilità diagnostiche indirette diverse su base essenzialmente anamnestica e sintomatologica in attesa - se

Impronte (di funghi disponibili)

Il colore delle spore può venir determinato tagliando il gambo vicino al cappello, lasciando riposare il cappello su un foglio di carta bianco per parecchie ore, per poi sollevarlo delicatamente. Sulla carta saranno chiaramente visibili le impronte delle spore di colore caratteristico (bianco, bruno, ruggine, grigio-fumo, nero, argilla, arancione, giallo, rosso, rosso-bruno, cioccolato, oliva, salmone, ecc.).

Esami (da contenuto gastrico)

Il materiale viene filtrato attraverso quattro strati di tela a maglie assai fitte con aggiunta d'acqua, se necessario, così da ottenere un'emulsione. Il filtrato è centrifugato a 7000 g per 10' e si allontana il supernatante.

Per aggiunta di una goccia d'acqua al sedimento, le spore - di dimensioni dei globuli rossi - possono essere osservate al microscopio ottico ad ingrandimento elevato (a basso ingrandimento, per es. 50x, si accerta soltanto l'avvenuta ingestione di ife, ma non è possibile l'identificazione della specie di appartenenza). Si esaminano le spore montate in mezzo acquoso in base alla loro forma, colore, aspetto generale, spessore della parete, sua ornamentazione e presenza di pori.

Se le spore sono ialine (incolori o bianche), vanno sempre osservate montate nel reattivo di Melzer: su vetrino portaoggetti si mescolano al momento dell'uso una goccia di reattivo di Melzer (0,5 g di iodio e 1,5 g di potassio ioduro in 20 ml di acqua) ed una goccia di cloralio idrato. Le spore con parete sottile e prive di pori danno una reazione positiva per l'amiloide (colore blu): *Amanita phalloides*, *A. verna*, *A. virosa*, *A. bisporigena*, *A. brunnescens*, *Lactarius* sp., *Russula densifolia*. Le spore di *Lepiota* montate in fucsina acida 1% danno una colorazione specifica.

TEST DI MEIXNER PER LE AMATOSSINE
(amanitine α , β , γ , ϵ)

Questo test qualitativo è altamente sensibile, ma la sua negatività in un fungo non garantisce che questo sia edule. Il test si basa su una reazione tra lignina (nella carta grezza) e amatossine in ambiente acido.

1. Spremere una goccia di succo da tessuto fresco sopra un pezzo di carta grezza (da giornale, da pacchi) utilizzando preferibilmente uno spremi-aglio. Se si dispone soltanto di un frammento lo si schiaccerà sulla carta stessa così che il succo verrà assorbito direttamente.

2. I campioni di feci e di contenuto gastrico vanno prima diluiti con metanolo, centrifugati e filtrati. (Si tenga presente che vi possono essere riconosciute amatossine fino a 15 ore dall'ingestione).

3. Cerchiare la macchia ancora umida con una matita per riconoscerne la posizione.

4. Asciugare la macchia sotto un getto delicato di aria calda (ad esempio con un asciugacapelli a debita distanza).

5. Aggiungere sulla macchia essiccata 2-3 gocce di HCl concentrato. La presenza di amatossine è indicata da colorazione blu. (Il controllo si esegue su un'area della stessa carta adiacente alla macchia, priva di estratto fungino, così da verificarne la negatività della reazione).

6. La colorazione si sviluppa entro appena 1-2 minuti, ma in 10-20 minuti se le amatossine sono presenti solo in tracce.

necessario - di prove dirette come l'identificazione delle spore al microscopio (Tabella 1) (consulenza importante ma non sufficiente della *guardia micologica*: l'intossicazione potrebbe essere provocata da pezzi di funghi *non* presenti tra i residui cotti e soprattutto crudi) e mediante reazioni colorimetriche: reazione amiloide o di Melzer (positiva = colore blu con le spore di *Amanita* - escluse *A. muscaria* e *A. pantherina* - di *Lactarius* sp. e di *Russula densifolia* (3) e reazione di Meixner (Tabella 2) (6). Quest'ultima, inapplicata nel nostro Paese, riguarda l'anello 6-idrossiindolico presente in alcune amatossine (le quattro amanitine α , β , γ , ϵ , l'amanullina, la proamanullina e l'acido amanullinico) ed assente in altre (amanina, amininamide) (1). La reazione è quindi specifica per i funghi del primo gruppo di Mitchel e in particolare per le amanitine, peraltro presenti (ad es. la γ) in piccole quantità nella *Lepiota* sp. (soprattutto *L. helveola* e *L. gracilentata*) spesso responsabili appunto di intossicazione «parafalloidea»! Ovviamente la reazione è negativa nei funghi degli altri sette gruppi di Mitchel. La preziosa collaborazione del Dr. G. Leoni, micologo del PMIP/USSL 75-III di Milano e del Dr. G. Capretti della Stazione Sperimentale Cellulosa, Carta e Fibre Tessili di Milano, che ha fornito una carta grezza standardizzata al 20% di lignina da pioppo, consentiranno di comunicare al prossimo Convegno Nazionale sugli Avvelenamenti da Funghi risultati interessanti ottenuti applicando questa reazione ben standardizzata a numerose specie di funghi, così da stabilirne la validazione. Infine i dosaggi c.s.s. e RIA hanno valore più a fini statistici che diagnostico-terapeutici.

In caso d'intossicazione dubbia o sospetta (disturbi gastroenterici sfumati, a rapida risoluzione, senza alterazioni dell'equilibrio idroelettrolitico; quadro bioumorale normale tra 24 e 48 ore dall'ingestione; assenza di criteri epidemiologici) non è necessario il ricovero, ma è indispensabile esaminare ambulatorialmente (ogni 12 ore nelle prime 24 ore ed ogni 24 ore fino a 60 ore) glicemia, azotemia, creatininemia, transaminasi ed attività protrombinica nel siero, nonché somministrare carbone attivato ad alte dosi (0,5 g/kg, cioè 2-4 cucchiaini in acqua, ogni 3 ore a distanza dai pasti). Soltanto se dopo 60 ore dall'ingestione il quadro clinico e bioumorale non sono alterati, trattamento e sorveglianza possono essere sospesi.

Da quanto esposto emerge la necessità, oltre che di collegamenti tra le competenze tossicologiche e gli interventi clinici per un supporto continuativo, anche dell'adozione di criteri selettivi per rapide decisioni operative.

A scopo esemplificativo, nelle Tabelle 3 e 4 si riportano rispettivamente schemi per la diagnosi della sindrome falloidea (2) e per la diagnosi differenziale delle intossicazioni da funghi in generale in base alla sintomatologia (5).

Dato che inizialmente la prima diagnosi è solo di sospetto, resta discriminante il fattore temporale per la diagnosi differenziale sia nell'ambito delle intossicazioni da funghi [3-4 citotossiche gravi con latenza > 6 ore che richiedono

terapia sintomatica, rimozionale, protettiva, sostitutiva e di supporto; 5-7 funzionali con latenza < 4 ore che richiedono soltanto un trattamento sintomatico di sostegno (Tabella 5)], sia nell'ambito delle intossicazioni non fungine con sindromi gastroenteriche (da iperdosaggio di farmaci, da infezioni e tossine batteriche, da contaminanti chimici) (3) (Tabella 6).

Una volta posta la diagnosi di certezza, i protocolli terapeutici risultano abbastanza standardizzati e fondamentalmente non si discostano da quelli previsti per intossicazioni acute da cause ignote con sindrome analoghe a quelle da funghi, ove il trattamento di supporto con monitoraggio continuo ha sempre la priorità in attesa dell'identificazione del tossico; nel caso del trattamento delle intossicazioni da funghi sussistono peraltro almeno sei possibilità di errore (4) (Tabella 7).

ELEMENTI DI DIAGNOSI DELLA SINDROME FALLOIDEA (2)

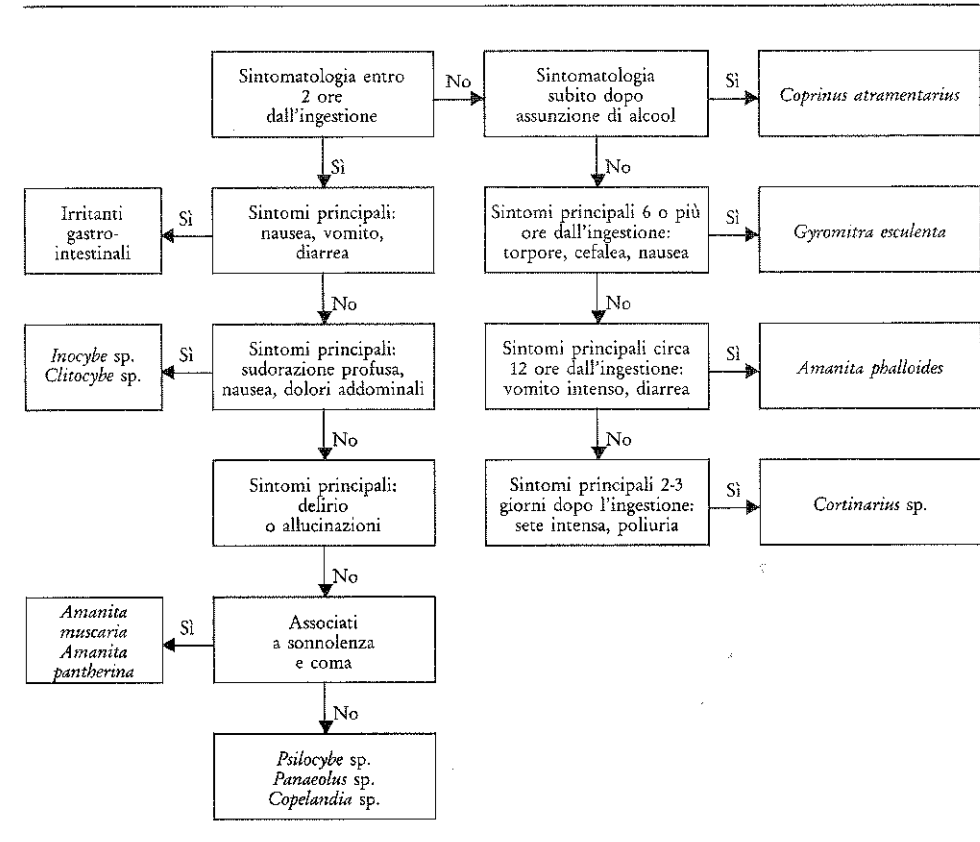
Tabella 3

- A — Anamnesi di ingestione di funghi con lamelle *bianche* sotto il cappello, raccolti da dilettanti e/o non controllati nei centri ufficialmente riconosciuti.
- B — Intervallo superiore a 6 ore fra ingestione di funghi sospetti e primi sintomi gastroenterici.
- C — Riconoscimento da parte di un micologo dei funghi ingeriti come appartenenti alle specie epatotossiche specifiche.
- D — Presenza di amatossina nelle urine.
- E — Rapido aumento degli enzimi (GOT, GPT) 24-36 ore dopo i primi sintomi gastroenterici, caduta dell'attività protrombinica e ipoglicemia.
- F — Quadro conclamato di epatite tossica con negatività degli antigeni per epatite virale.

- Diagnosi sospetta = A + B + E
- Diagnosi certa = C + D
- oppure = F + $\begin{matrix} A \\ B \end{matrix}$

DIAGNOSI DIFFERENZIALE DELLE INTOSSICAZIONI DA FUNGHI IN BASE ALLA SINTOMATOLOGIA (5)

Tabella 4



TIPI DI INTOSSICAZIONI DA FUNGHI

Tabella 5

Sindrome	Tossine	Specie	Latenza o incubazione
A. A breve incubazione			
1. Anticolinergica o micoatropinica o muscaria o pantherina	GABA-analoghi: alcaloidi isossazolici, muscimolo, muscazone, ac. ibotenico (muscarina solo in tracce!). Bufotenina non nella <i>A. muscaria</i> , ma nella <i>A. citrina</i> , <i>A. porphyria</i> e <i>A. tomentella</i>	<i>Amanita muscaria</i> , <i>A. muscaria</i> var. <i>regalis</i> o <i>A. umbrina</i> , <i>A. muscaria</i> var. <i>aureola</i> , <i>A. flavoconia</i> , <i>A. pantherina</i> , <i>A. brunnescens</i> , <i>A. gemmata</i> , <i>A. cokeri</i> , <i>A. cothurnata</i> , <i>A. crenulata</i> , <i>A. solitaria</i> (cuticola del cappello)	20' - 4 ore
2. Muscarinica o sudorifica o colinergica periferica	Muscarina (termoresistente!)	<i>Clitocybe dealbata</i> , <i>C. rivulosa</i> , <i>C. russata</i> , <i>Inocybe patouillardii</i> , <i>I. pudica</i> , <i>I. rimosa</i> o <i>I. fastigiata</i> , <i>I. geophylla</i> , <i>I. napipes</i> , <i>I. interaria</i> , <i>I. lanuginosa</i> , <i>Boletus calopus</i> , <i>B. erythropus*</i> , <i>B. luridus*</i> , <i>B. pulcherrimus</i> , <i>B. satanas</i> e altre. <i>Omphalotus olearius</i> o <i>Clitocybe illudens</i> (* commestibile solo dopo cottura)	15' - 4 ore
3. Gastro-intestinale o resinoidale o lividica o enterotossica	Citotossine di vario tipo generalmente idrosolubili o termolabili	<i>Agaricus xanthodermus</i> , <i>A. hondensis</i> , <i>Amanita brunnescens</i> , <i>Boletus satanas</i> , <i>B. sensibilis</i> , <i>Cantharellus</i> sp. <i>Clavaria formosa</i> , <i>C. pallida</i> , <i>C. stricta</i> , <i>Chlorophyllum molybdites</i> , <i>Clitocybe truncicola</i> , <i>Entoloma lividum</i> o <i>Rhodophyllum lividus</i> , <i>Gomphus floccosus</i> , <i>Hebeloma crustuliniforme</i> , <i>H. mesophaeum</i> , <i>Hypholoma fasciculare</i> , <i>H. sublateritium</i> , <i>Lactarius torminosus</i> , <i>L. rufus</i> , <i>L. helvus</i> , <i>L. spinosus</i> , <i>L. scropiculatus</i> , <i>L. blennius</i> , <i>L. trivialis</i> , <i>L. turpis</i> , <i>L. flexuosus</i> , <i>L. uvius</i> , <i>Lepiota</i> sp. (non <i>helveola</i> !), <i>L. naucina</i> (qualche annata), <i>Paxillus involutus</i> , <i>Psalliota xanthoderma</i> , <i>Ramaria formosa</i> , <i>R. gelatinosa</i> , <i>Russula emetica</i> , <i>R. queletii</i> , <i>R. badia</i> , <i>R. consobrina</i> , <i>R. densifolia</i> , <i>R. fellea</i> , <i>R. fragilis</i> , <i>R. sardonica</i> , <i>Scleroderma aurantium</i> , <i>S. vulgare</i> , <i>Tricholoma pesundatum</i> var. <i>montanum</i> , <i>T. tigrinum</i>	30' - 4 ore, talvolta anche 4-6 ore
4. Botulinica	Ptomaine	Carpofori alterati	1-4 ore
5. Paxillica	Tossine termolabili	<i>Paxillus involutus</i>	1-3 ore o più

Segue

Sindrome	Tossine	Specie	Latenza o incubazione
6. Coprinica o disulfiram-simile o eretistica	Coprina (N ² -1-idrossiciclopropil-glutammina?)	<i>Coprinus atramentarius</i> , <i>Clitocybe clavipes</i> , <i>Boletus luridus</i> , <i>Verpa bobemica</i>	Subito dopo assunzione di alcool o anche entro una settimana
7. Allucinogena o narcotiniana o psicodislettica	Indoli psicodislettici: psilocibina, psilocina, psilocibina demetilata (baeocistina e norbaeocistina)	<i>Gymnopilus aeruginosus</i> , <i>G. spectabilis</i> , <i>G. validipes</i> , <i>G. luteus</i> , <i>G. viridans</i> , <i>Psilocybe</i> sp., <i>Panaeolus</i> sp., <i>Stropharia</i> sp., <i>Conocybe cyanopus</i> , <i>Pluteus salicinus</i>	20 - 60'
B. A lunga incubazione			
1. Falloidea o tossinica o degenerativa	Ciclopeptidi: citotossici - falloidine (falloina, fallucidina, falloidina); - amanitine (α , β , γ , δ , ϵ -amanitina, amanina, amanullina); emolitici, (fallina); congestizi (fallisina)	<i>Amanita phalloides</i> , <i>A. verna</i> , <i>A. virosa</i> , <i>A. bisporigena</i> , <i>A. ocreata</i> , <i>A. subballiacea</i> , <i>A. tenuifolia</i> , <i>Galerina autumnalis</i> , <i>G. marginata</i> , <i>G. venenata</i>	8-24 ore, talora fino a 48 ore
2. Parafalloidea o resinoidale a lunga incubazione	(non bene identificate) (γ -amanitina?)	<i>Lepiota helveola</i> , <i>L. bruno-incarnata</i> , <i>Entoloma lividum</i> o <i>Rhodophyllum lividum</i> , <i>E. rhodopolium</i> , <i>Tricholoma tigrinum</i> , <i>T. groenense</i> , <i>Clitocybe olearia</i>	6-10 ore
3. Gyromitriana o giromitrica	Giromitrina e metaboliti: monometilidrazina (volatile, estraibile con acqua bollente!). Monometilformilidrazina. Acido elvellico.	<i>Gyromitra esculenta</i> , <i>G. gigas</i> , <i>G. ambigua</i> , <i>G. infula</i> , <i>G. caroliniana</i> , <i>G. brunnea</i> , <i>G. fastigiata</i> , <i>Sarcosphaera coronaria</i> , <i>Paxina</i> sp.	6-48 ore
4. Orellanica o renale	Ciclopeptidi; orellanine, cortinarina A e B. Bìpiridine	<i>Cortinarius orellanus</i> , <i>C. orellanoides</i> o <i>C. speciosissimus</i> e altre 40 specie	3-15 giorni

DIAGNOSI DIFFERENZIALE DELLE GASTRITI DA FUNGHI (3)

Tabella 6

<i>Farmaci</i>		
Digitossina	Pilocarpina	Cocaina
Ergotinici	Etanolo	Novocaina
Catartici	Nicotina	Colchicina
Acido bórico		
<i>Infezioni</i>		
Gastroenteriti virali	<i>Vibrio cholerae</i>	
	<i>Clostridium botulinum A e B</i> (conservate ed alimenti conservati in casa)	
	<i>Staphylococcus aureus</i> (prodotti caseari non tenuti in frigorifero)	
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (pesce)	
	<i>Salmonella enteritis</i> (animali selvatici e domestici)	
	<i>Bacillus cereus</i> (carne, pasticci di carne, riso)	
<i>Composti chimici</i>		
Metalli pesanti	Corrosivi	Alogeni
Anticolinesterasici	DDT	Creosoto
Fenoli	Fosforo	
<i>Tossine e tossici</i>		
Tossina botulinica	Muscarina	Metanolo

POSSIBILITÀ DI ERRORI NEL TRATTAMENTO
DELL'AVVELENAMENTO DA FUNGHI (4)

Tabella 7

1. L'avvelenamento da funghi può in realtà essere una reazione allergica o un'intossicazione alimentare o una tossinfezione alimentare.
2. L'avvelenamento da funghi può essere in realtà dovuto a contaminazione da pesticidi o a psicofarmaci di abuso aggiunti o a stati morbosi concomitanti.
3. Ritenere che *tutti* i soggetti che hanno assunto lo stesso fungo debbano necessariamente risultare intossicati.
4. Ritenere che se una sintomatologia si presenta entro 6 ore dall'ingestione, non debba trattarsi di avvelenamento da amanite letali.
5. Dimettere i pazienti senza poi seguirli quando sembrano non presentare più sintomi gastroenterici che potranno invece ripresentarsi oltre 6 ore dall'ingestione.
6. Privilegiare l'identificazione delle tossine e la scelta degli antidoti, a spese degli inderogabili fondamenti del trattamento sintomatico di sostegno.

BIBLIOGRAFIA

1. BEUTLER J.A., VERGEER P.P., 1980 - Amatoxins in American mushrooms: Evaluation of the Meixner test. *Mycologia*, 72: 1142-1149.
2. BOZZA MARRUBINI M., DAVANZO F., 1987 - Le sostanze con azione specificatamente lesiva sul fegato e sul rene. *Il Polso*, 2: 66-71.
3. ELLENHORN M.J., BACELOUX D.G., 1988 - Medical Toxicology. *Elsevier*, N.Y.,: 1324-1351.
4. KULIG K., RUMACK B., 1983 - Mushrooms. In HADDAD L.M., WINCHESTER J.F. - Clinical management of poisoning and drug overdose. *W.B. Saunders*, Philadelphia: 294-303.
5. LAMPE K.F., 1977 - Mushrooms poisoning in children updated. *Paediatricum*, 6: 290-296.
6. MEIXNER A., 1979 - Amatoxin-Nachweis in Pilzen. *Z. Mykol*, 45: 137-140.
7. MITCHEL D.A., 1980 - Amanita mushroom poisoning. *Ann. Rev. Med.*, 31: 51-57.

Indirizzo degli autori:

L. Cima: Centro Interdipartimentale di Ricerca sulle Intossicazioni Acute (C.I.R.I.A.)
- Servizio Antiveneni - Dipartimento di Farmacologia,
Università degli Studi di Padova, Largo Meneghetti 2 - 35131 Padova
F. Cima: Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Padova,
Via Trieste, 75 - 35131 Padova
