

Ann. Mus. civ. Rovereto	Sez.: Arch., St., Sc. nat.	Suppl. vol. 8 (1992)	183-192	1993
-------------------------	----------------------------	----------------------	---------	------

I. BUZZETTI & M. GELOSA

ANALISI MICOTOSSICOLOGICHE
 IN AVVELENAMENTI DA FUNGHI
 PRESIDIO MULTIZONALE DI IGIENE DI MILANO
 UNITÀ DI RIFERIMENTO PER LA MICOLOGIA

Riassunto - I. BUZZETTI & M. GELOSA - Analisi micotossicologiche in avvelenamenti da funghi: presidio multizonale di igiene di Milano Unità di riferimento per la micologia.

Vengono presentate le esperienze riguardanti i casi di avvelenamento da funghi occorsi nel 1991 in Milano e suo hinterland, nonché i risultati di 114 campioni esaminati, di cui 86 rappresentati da funghi residui di alimenti consumati e 28 costituiti da succhi gastrici, che hanno evidenziato la presenza di 33 specie fungine tossiche e velenose.

Viene anche valutata la ricerca della *alfa-amanitina* nei liquidi biologici dei pazienti avvelenati da funghi.

INTRODUZIONE

«Andare per funghi» è diventato un hobby ed una necessità di evasione dall'ambiente urbano inquinato, tuttavia il contatto con la natura, la raccolta indiscriminata dei funghi naturali ed il loro incauto consumo hanno incrementato i casi di avvelenamento da funghi.

Dalle statistiche nazionali relative al periodo 1980-1987 risulta che la Lombardia rappresenta la regione con il maggior numero di decessi per avvelenamenti da funghi in Italia.

Al fine di prevenire o di contenere l'insorgenza di tali episodi, la Regione Lombardia in questi ultimi anni ha regolamentato la raccolta dei funghi epigei,

ed ha istituito centri di controllo micologico per i funghi freschi, uffici micologici per il controllo dei funghi secchi e condizionati, nonché una unità di riferimento regionale di supporto analitico per gli avvelenamenti da funghi (L.R. n. 31/89, Circolare Reg. n. 61/90). Infatti si calcola che su circa 8000 specie fungine descritte ve ne siano circa un centinaio dotate di effetti tossici e circa una decina potenzialmente velenose mortali (1, 3, 4).

Escludendo i funghi contenenti veleni naturali, è necessario sottolineare che anche i funghi di specie mangereccia possono diventare incommestibili per varie cause quali:

- alterazioni dovute ad ammuffimento;
- contaminazione chimica ambientale dovuta ad assorbimento di metalli pesanti quali: cadmio, mercurio, piombo, tallio, rame;
- contaminazione fisica ambientale da isotopi radioattivi, quali il cesio 134 e 137, quest'ultimo derivato dalla fissione dell'uranio 235 con un tempo di dimezzamento di circa 30 anni, attualmente ancora presente dopo l'incidente di Chernobyl.

Vi sono poi funghi appartenenti a specie mangerecce che necessitano di un pretrattamento, prima di essere consumati. Le specie *Armillaria mellea*, *Clitocybe nebularis*, *Boletus erythropus*, *Boletus luridus* e *Amanitopsis vaginata* necessitano una prebollitura prolungata di circa 30 minuti, con gettito dell'acqua, onde eliminare sostanze tossiche termolabili.

Per le specie *Armillaria mellea*, *Boletus rufus* e *Boletus scaber* è necessaria la preventiva eliminazione del gambo fibrotenace e indigesto.

MATERIALI E METODI

I materiali analizzati per la identificazione delle specie, delle spore e delle tossine fungine sono stati i seguenti:

- funghi interi freschi sia naturali che coltivati;
- funghi secchi e conservati sott'olio, congelati, surgelati;
- avanzi e scarti di preparazione dei funghi (pezzi di gambo e/o di cappello);
- residui alimentari contenenti funghi e funghi già cucinati utilizzati come ingredienti di un primo o di un secondo piatto;
- funghi espulsi con vomito spontaneo;
- succo gastrico prelevato con sondino;
- sangue prelevato dagli intossicati.

Le analisi micotossicologiche sono state:

- esami morfobotanici per l'individuazione delle specie fungine;

- saggi chimico-cromatici (H_2SO_4 al 50% e NNO_3 al 30%) su tessuti fungini;
- esami microscopici per il riconoscimento morfologico delle spore appartenenti a determinate specie;
- colorazione specifiche delle spore (Melzer, Bleu cresile, Bleu lattico);
- analisi tossicologiche (HPLC) per la ricerca dell'*alfa-amanitina* nei liquidi biologici (siero) delle persone intossicate, secondo il metodo descritto da Belliar-do e Coll. (2).
- esami parassitologici per il rilevamento di parassiti infestanti i funghi;
- esami micologici e microbiologici per la ricerca di microrganismi contaminanti gli alimenti consumati.

RISULTATI

In occasione di casi di avvelenamenti da funghi occorsi nel 1991 in Milano e hinterland sono stati esaminati 114 campioni, di cui 86 rappresentati da funghi residui di alimenti consumati da pazienti intossicati e 28 costituiti da succo gastrico (Tab. 1).

I pazienti risultavano ricoverati presso enti ospedalieri milanesi. Sulla base di apposite schede epidemiologiche (Tab. 2), accompagnanti i campioni, si è potuto stabilire che in 39 casi i funghi in causa erano stati raccolti dal paziente stesso o dai suoi familiari, in 17 casi erano stati ricevuti in regalo da terzi, in 10 casi erano stati acquistati in pubblico esercizio (Tab. 3).

L'esame micologico macro e microscopico degli 86 campioni di materiale fungino esaminato, talora costituito da solo scarto di cucinatura dei funghi, ha evidenziato la presenza di 117 specie fungine, di cui 33 velenose, 71 commestibili, 5 non riconoscibili, 5 non identificabili e 3 non commestibili (Tab. 4).

Tra le specie velenose si sono evidenziate l'*Amanita phalloides* in 4 casi, l'*Entoloma lividum* in 2 casi, il *Tricholoma tigrinum* in 1 caso, il *Paxillus involutus* in 1 caso, mentre in 7 casi si sono evidenziati funghi del genere *Clitocybe* di sospetta tossicità muscarinica (Tabb. 7, 8, 9).

L'esame del succo gastrico ha evidenziato in 10 casi spore non riconoscibili, in 8 casi assenza di spore, in 5 casi spore appartenenti a generi diversi e in 3 casi pezzi di funghi di tossicità sospetta (Tab. 8).

Un'utile indagine tossicologica, in caso di sospetto avvelenamento da *Amanita phalloides* o da *Lepiota sp.* a taglia piccola, è il dosaggio dell'*alfa-amanitina* sui liquidi biologici (2, 6, 7, 8, 10, 11).

La ricerca cromatografica in 43 campioni di siero provenienti da pazienti ricoverati in ospedale è risultata negativa, mentre il dosaggio con metodo radioimmunologico in 6 campioni di urina degli stessi pazienti è risultato positivo.

Nel 1991 in Lombardia si è verificata una crescita abbondante dell'*Entoloma lividum*, che ha causato gravi avvelenamenti.

L'*Armillaria mellea*, la *Clitocybe nebularis*, il *Marasmius oreades*, il *Pleurotus ostreatus*, pur essendo annoverati tra i funghi commestibili, devono essere consumati dopo prolungata cottura con eliminazione dell'acqua di cottura stessa e con l'eventuale scarto del gambo fibrotenace.

L'esame micologico macro-microscopico, integrato dal saggio chimico-cromatico dei funghi residui del pasto, degli scarti di cucinatura e dei funghi espulsi col vomito, si conferma come valido ausilio diagnostico nei casi di avvelenamento.

L'analisi cromatografica HPLC per la ricerca della *alfa-amanitina* nel siero si è dimostrata poco utile.

Infatti tra la 12^a e la 18^a ora si verificherebbe una rapida caduta della concentrazione plasmatica della molecola tossica (5).

Pertanto più valido è risultato il rilevamento radioimmunologico dell'*alfa-amanitina* nelle urine per la maggiore sensibilità e la possibilità di riscontro fino a 48 ore dal consumo dei funghi velenosi.

Tabella 1

CAMPIONI ESAMINATI NEL 1991
PER AVVELENAMENTI DA FUNGHI

RESIDUI DI FUNGHI	86
SUCCHI GASTRICI	28
TOTALE	114

SCHEDA DA ALLEGARE AL CAMPIONE INVIATO

ENTE OSPEDALIERO

Al Presidio Multizonale
di Igiene e Prevenzione (P.M.I.P.)
Unità Operativa n. 1
Medico Micrografico e Tossicologico
Tel.: 75722275-75722238-75722220
Fax.: 02-75722267

QUESTIONARIO PER SOSPETTA INTOSSICAZIONE DA FUNGHI

- 1) Mittente del campione
 - 2) Data di invio data di arrivo al P.M.I.P.
 - 3) Tipo di campione inviato:
 - residui alimentari di funghi freschi , secchi , conservati sott'olio , sotto aceto , già cucinati
 - frammenti di funghi emessi con vomito spontaneo , con vomito provocato , con feci
 - 4) Origine del campione:
 - funghi raccolti personalmente , da un familiare
 - funghi ricevuti in regalo da terzi
 - funghi comperati in pubblico esercizio
 - funghi consumati in pubblico esercizio
 - 5) I funghi sono stati consumati crudi , cotti
 - 6) Altri alimenti consumati assieme ai funghi:
- 7) QUADRO SINTOMATICO DEL PAZIENTE:
- | Cognome | Nome | Età |
|---|--------|---|
| | | |
| Periodo latenza | Durata | |
| | | |
| Nausea <input type="checkbox"/> Vomito <input type="checkbox"/> Diarrea <input type="checkbox"/> Dolori addominali <input type="checkbox"/> Crampi <input type="checkbox"/> Sudori <input type="checkbox"/> Febbre <input type="checkbox"/> | | |
| <input type="checkbox"/> Secchezza bocca <input type="checkbox"/> Convulsioni <input type="checkbox"/> Tremori <input type="checkbox"/> Dispnea <input type="checkbox"/> Vertigini <input type="checkbox"/> Eccitazione psicomotoria <input type="checkbox"/> Sopore <input type="checkbox"/> | | |
| Altri sintomi: | | |
| Commensali sintomatici <input type="checkbox"/> quanti <input type="checkbox"/> | | asintomatici <input type="checkbox"/> quanti <input type="checkbox"/> |
| Osservazioni: | | |
| | | |

Tabella 3

PROVENIENZA DEI CAMPIONI ESAMINATI

CAMPIONI DI FUNGHI RACCOLTI DA PRIVATI CITTADINI	39
CAMPIONI DI FUNGHI RICEVUTI IN REGALO DA TERZI	17
CAMPIONI DI FUNGHI COMPERATI IN PUBBLICO ESERCIZIO	20
CAMPIONI DI FUNGHI DI PROVENIENZA NON ACCERTATA	20
TOTALE	86

Tabella 4

SPECIE FUNGINE RILEVATE
IN CASI DI AVVELENAMENTI DA FUNGHI NEL 1991

SPECIE VELENOSE	33
SPECIE NON COMMESTIBILI	3
SPECIE COMMESTIBILI	71
SPECIE NON IDENTIFICATE	5
SPECIE NON RICONOSCIBILI	5
TOTALE	117

Tabella 5

SPECIE VELENOSE

<i>Entoloma sp.</i>	9	(2 <i>E. lividum</i>)
<i>Clitocybe sp.</i>	7	(1 <i>C. bianca</i>)
<i>A. phalloides</i>	4	(1 presenza della sola volva)
<i>Panaeolus sp.</i>	3	
<i>Tricholoma sp.</i>	3	(1 <i>Tr. tigrinum</i>)
<i>Psalliota sp.</i>	2	(1 sosp. non id. - 1 <i>P. xanthoderma</i>)
<i>A. muscaria var. aureola</i>	1	
<i>Clavaria sp.</i>	1	
<i>Paxillus involutus</i>	1	
<i>Volvaria esculenta</i>	1	
<i>Inocybe sp.</i>	1	

SPECIE NON COMMESTIBILI

<i>Amanita citrina</i>	1
<i>Clitocybe aurantiaca</i>	1
<i>Agrocybe sp.</i>	1

Tabella 6

SPECIE COMMESTIBILI	
<i>Armillaria mellea</i>	14
<i>Boletus sp.</i>	11
<i>Boletus edulis</i>	4
<i>Boletus</i> Sottogenere <i>ixocomus</i>	1
<i>Boletus ferrugineus</i>	1
<i>Boletus elegans</i>	1
<i>Boletus luteus</i>	1
<i>Leccinum rufum</i>	2
<i>Leccinum sp.</i>	1
<i>Clitocybe nebularis</i>	10
<i>Marasmius oreades</i>	10
<i>Psalliota sp.</i>	8
<i>Pleurotus ostreatus</i>	5
<i>Tricholoma nudum</i>	3
<i>Clitocybe inversa</i>	3
<i>Lepiota procera</i>	3
<i>Lepiota procera</i>	2
<i>Lepiota rachodes</i>	1
<i>Cantharellus cibarius</i>	1
<i>Hydnum repandum</i>	1
<i>Pholiota aegerita</i>	1
<i>Volvaria sp.</i>	1

Tabella 7

SPECIE NON IDENTIFICATE	
AGARICACEAE	3
RUSSULACEAE	1
LEPIOTACEAE	1
SPECIE NON RICONOSCIBILI	
	5

Tabella 8

SUCCHI GASTRICI	
ESAME MACRO E MICROSCOPICO	CAMPIONI
Spore non riconoscibili	10
Assenza di spore	9
Spore del genere <i>Entoloma</i>	3
Spore di <i>Clitocybe nebularis</i>	1
Pezzi di <i>Armillaria mellea</i> e <i>Clitocybe</i> bianca	1
Pezzi di <i>Marasmius oreades</i>	1
Pezzi di <i>Clitocybe</i> di sospetta tossicità	1
Spore di <i>Panaeolus</i>	1
Spore di <i>Armillaria mellea</i>	1
TOTALE	28

BIBLIOGRAFIA

1. ARIETTI N. & TOMASI R., 1975 - I funghi velenosi. *Edagricole*, Bologna.
2. BELLUARDO F. & MASSANO G., 1983 - Determination of α -amanitin in serum by HPLC. *J. Liq. Chromatogr.*, 6, 551-558.
3. CANTELLI FORTI G., 1989 - Caratteristiche e meccanismi degli avvelenamenti da funghi. Atti del 1° Convegno Nazionale sugli avvelenamenti da funghi, Rovereto, 22-23 ottobre 1988. *Annali Musei Civici di Rovereto*. Suppl. 4 (1988): 29-51.
4. CETTO B., 1980 - I funghi dal vero. *Ed. Saturnia*, Trento, Voll. I-VI.
5. COSTANTINO D., 1978 - Mushroom poisoning in Italy. *Int. J. Art. Org.*, 1: 257-259.
6. JEHL F., GALLION C., BIRCKEL P., JAEGER A., FLESCHE F. & MINCK R., 1985 - Determination of beta-Amanitin and alfa-Amanitin in Human Biological Fluids by High-Performance Liquid Chromatography. *Analytical Biochemistry*, 149: 35-42.
7. FAULSTICH H., TRISCHMANN H. & ZOBEL S., 1975 - A radioimmunoassay for amanitin. *Febs Lett.*, 56, 312.
8. HOMANN J., RAWER P., BLEYL H., MATTHES K. J. & HEINRICH D., 1986 - Early detection of amatoxin. *Arch. Toxicol.*, Oct. 59 (3): 190-191.
9. GALLI R. et Alii - Funghi velenosi. *Ed. La Tipotecnica*, S. Vittore O. (MI).
10. RIECK W. & PLATT D., 1988 - Highperformance liquid chromatographic method for the determination of alfa-amanitin and phalloidin in human plasma using the column-switching technique and its application in suspected cases of poisoning by the green species of *Amanita mushroom* (*Amanita phalloides*). *J. of Chromatogr.*, 425: 121-134.
11. WIELAND T. & FAULSTICH H., 1978 - Amatoxins, phallotoxins, phallolysin and antamanide, the biologically active components of poisonous *Amanita mushrooms*. *Crit. Rev. Biochem.*, 5: 195-260.

Indirizzo degli autori:
I. Buzzetti - M. Gelosa:
Presidio Multizonale di Igiene e Prevenzione
Via Juvara, 22 - 20129 Milano
