

Ann. Mus. civ. Rovereto	Sez.: Arch., St., Sc. nat.	Suppl. vol. 8 (1992)	239-244	1993
-------------------------	----------------------------	----------------------	---------	------

A. VALLI, C. COMOTTI, C. ROVATI, A. PERUZZINI, N. BERGAMO, R. VIOLA,
E. BRUNELLI, G. FRATTIN, G. DI SALVO, F. CAPPELLETTI, G. MOSNA,
L. ROCCHETTI & M. P. PERLOT

PUÒ IL TEST AL CLORURO FERRICO CONTRIBUIRE ALLA DIAGNOSI PRECOCE DI INTOSSICAZIONE DA *CORTINARIUS*

Riassunto - A. VALLI, C. COMOTTI, C. ROVATI, A. PERUZZINI, N. BERGAMO, R. VIOLA, E. BRUNELLI, G. FRATTIN, G. DI SALVO, F. CAPPELLETTI, G. MOSNA, L. ROCCHETTI & M. P. PERLOT - Può il test al cloruro ferrico contribuire alla diagnosi precoce di intossicazione da *Cortinarius*?

È ormai noto come l'avvelenamento da funghi del genere *Cortinarius* determini in molti casi insufficienza renale irreversibile.

La diagnosi di intossicazione e quindi la possibilità di intervento è resa difficile non solo dal lungo tempo di latenza tra l'ingestione del fungo e la comparsa dei sintomi ma soprattutto dalla mancanza di un test diagnostico rapido ed affidabile nelle primissime fasi dell'avvelenamento.

Per tale motivo gli Autori propongono l'utilizzo a scopo diagnostico del test al cloruro ferrico, opportunamente modificato, suggerito dai professori Pöder e Moser dell'Università di Innsbruck basato su di una reazione, colorimetrica dell'orellanina a tale composto (1). Il metodo è stato sperimentato, onde valutarne la specificità, su 106 campioni di urine, 65 appartenenti a soggetti in monoterapia farmacologica, 40 al gruppo di controllo (nessun farmaco) ed 1 ad un paziente affetto da intossicazione da funghi del genere *Cortinarius*.

INTRODUZIONE

Nell'uomo sono stati riportati numerosi casi di avvelenamento da funghi del genere *Cortinarius* per cause accidentali.

L'orellanina è stata ritenuta la principale tossina responsabile di tali intossicazioni (GRZYMALA 1957-1962, RICHARD 1985, ANTHOWIAK & GESSER 1979,

TIECCO 1986, TESTA 1970-1982, CADDY 1982, GAMPER 1977, KURSTEINER & MOSER nel 1981, PRAST & PFALLER nel 1988).

Mentre in un primo momento si pensava che i casi di insufficienza renale riconosciuti in Polonia fossero determinati solo dal *Cortinarius orellanus* è stato dimostrato in seguito che molte altre specie presentavano gli stessi effetti: es. il *Cortinarius speciosissimus*, il *venenosus*, l'*orellanoides*.

È d'altronde noto il particolare tropismo della tossina per il rene.

Il lungo periodo di latenza tra l'ingestione la sintomatologia clinica ma soprattutto i danni renali, quasi sempre irreversibili a quadro clinico conclamato, e le notevoli difficoltà di una diagnostica precoce hanno spinto gli Autori alla ricerca di un test semplice ed affidabile per lo screening sistematico del paziente con sospetto avvelenamento da funghi.

SCOPO DELLA RICERCA

Tentare di individuare, già nelle prime ore dall'ingestione, una eventuale intossicazione da *Cortinarius*, quando la sintomatologia è caratterizzata da disturbi prevalentemente a carico della sfera digestiva (epigastralgie, nausea, vomito, secchezza del cavo orale, sensazione di gusto metallico, diarrea). Per tale motivo gli Autori propongono di utilizzare a scopo diagnostico il test al cloruro ferrico, opportunamente modificato, suggerito dai professori Pöder e Moser dell'Università di Innsbruck, basato su di una reazione colorimetrica tra il cloruro ferrico e l'orellanina.

Il metodo per la sua estrema facilità di impiego ed il basso costo potrebbe entrare di routine nella diagnostica dei casi di sospetto avvelenamento da funghi.

Scopo del presente lavoro è valutare la specificità della metodica proposta in presenza ed in assenza di terapia farmacologica.

MATERIALI E METODI

Sono stati esaminati 106 campioni di urine di 106 soggetti: 65 assumevano da almeno 48 ore un farmaco (monoterapia), 40 non assumevano nessun tipo di farmaco (gruppo di controllo), 1 campione di urina proveniva da un paziente da noi ricoverato nel 1987 per insufficienza renale acuta da intossicazione da funghi del genere *Cortinarius* e tuttora in trattamento emodialitico cronico.

I campioni di urina, congelati dopo la raccolta, sono stati opportunamente concentrati (20 volte circa mediante evaporazione). Il metodo macrochimico utilizzato per rilevare la presenza di sostanze interferenti è stato quello messo a punto da Pöder e Moser della Università di Innsbruck in una delle sue varianti

che utilizza come agente complessante della molecola di orellanina il cloruro ferrico (1).

Una striscia di carta da filtro, imbibita di una soluzione di cloruro ferrico ($FeCl_3$) al 2% in HCl 0,5 normale, viene lasciata asciugare all'aria per circa 30-60 minuti: particolare attenzione deve essere posta affinché la distribuzione del complessante sulla carta sia uniforme, infatti questa alla fine del trattamento deve presentare un colore giallo omogeneo.

Dieci microlitri (una piccola goccia) di campione di urine concentrate e di sostanza di controllo (estratto del fungo secco ottenuto per semplice reidratazione con poche gocce d'acqua e successiva spremitura) (Fig. 1) vengono lasciati cadere sulla carta impregnata e si attendono alcuni secondi fino alla completa diffusione radiale del campione sulla carta. L'eventuale reazione positiva alla presenza di sostanze orellaniniche si manifesta con la comparsa di due macchie circolari concentriche di cui la prima, a pupilla, di colore rosso scuro (complesso ferro-orellanina) la seconda, fascia circostante iridea, di colore blu-violetto.

Secondo l'esperienza degli Autori la variante descritta si dimostrerebbe migliore nella ripartizione dei colori e quindi risulterebbe più affidabile.

RISULTATI

Dei 65 campioni di urine analizzate in pazienti in monoterapia farmacologica 13 sono risultati positivi alla reazione con cloruro ferrico (Fig. 3), 6 casi di positività erano invece presenti nel gruppo di controllo. Positivo il campione di urina del paziente intossicato con funghi del genere *Cortinarius* (Fig. 2).

La specificità del test è pertanto risultata essere dell'80% nel primo gruppo contro l'85% del secondo (gruppo di controllo).

DISCUSSIONE

Il test per avere un valore diagnostico probante dovrebbe risultare positivo nella gran parte dei casi di avvelenamento da *Cortinarius* (contenenti orellanina) e negativo nei controlli.

Solo in presenza di un numero elevato di pazienti intossicati, che nessuno si augura, si potrebbe valutare appieno oltre che la specificità anche la sensibilità del test medesimo.

Dai risultati da noi ottenuti si può solo affermare che la specificità della metodica, buona in assenza di farmacoterapia, si abbassa lievemente in presenza di medicinali, forse a causa di interferenze farmacologiche.

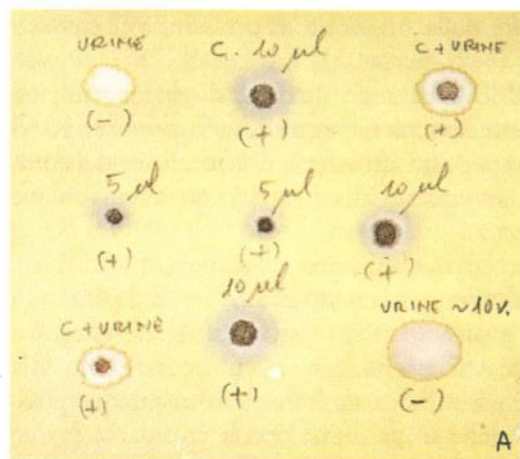


Fig. 1 - Positivtà al test con estratto acquoso di fungo a varie concentrazioni (vedi testo).



Fig. 2 - Positivtà al test in un caso di avvelenamento da funghi del genere *Cortinarius* (*orellanus?*).

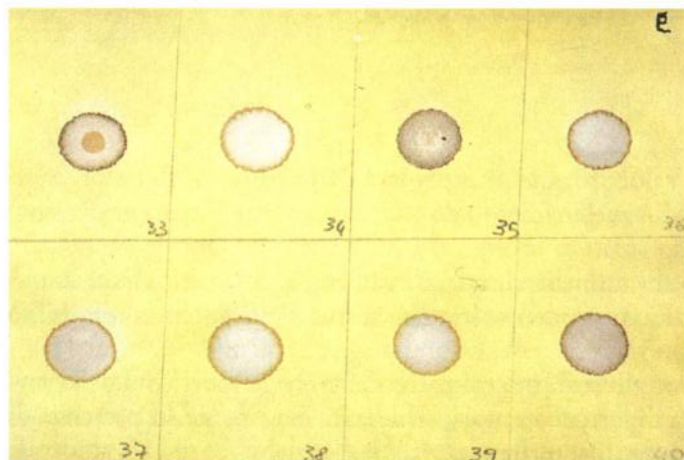


Fig. 3 - Falsa positivtà del test in un caso di assunzione di IPAMIX. (Indapamide, sulfamidico non tiazidico).

CONCLUSIONI

Gli Autori suggeriscono che la metodica proposta, di facile esecuzione e di basso costo, attuabile anche senza l'ausilio di un laboratorio, possa essere introdotta, nonostante i suoi limiti, tra le indagini di routine abitualmente eseguite in caso di sospetto avvelenamento da funghi.

BIBLIOGRAFIA

1. PÖDER R. & MOSER M., 1989 - Eine Einfache, Empfindliche methode zum makrochemischen nachweis von orellanin. *Mycologia Helvetica*, 3 (3): 283-290.
2. ANTKOWIAK W. Z. & GESSNER W. P., 1979 - The structures of orellanine and orelline. *Tetrahedon Letters*, 21: 1931.
3. GRZYMALA S., 1965 - Etude clinique de l'intoxications par les champignon du genre *Cortinarius* *Orellanus* fries. *Bull. Med. Leg. Toxicol. Med.*, 8: 60.
4. HEUFLE C., FELMAYER G. & PRAST H., 1987 - Investigations on the mode of action of the fungus toxin orellanine on renal cell cultures. *Agents and Actions*, 21: 1-2.
5. HOLMDAHL J. et Alii, 1987 - Isolation and nephrotoxic studies of orellanine from the mushroom *cortinarius speciosissimus*. *Toxicol*, 25 (2): 195-199.
6. KURNSTEINER H. & MOSER M., 1981 - Isolation of lethal toxin from *Cortinarius Orellanus* Fr., *Mycopathologia*, 74: 65-72.
7. MARRUBINI BOZZA M. L., GHEZZI LAURENZI R. & UCCELLI P., 1987 - Intossicazioni acute. *O.E.M.F.*: 1019-1021.
8. PRAST H., WERMER E. R., PFALLER W. & MOSER M., 1988 - Toxic properties of the mushroom *cortinarius orellanus*. *Arch. Toxicol*; 62: 81-88.

Indirizzo degli autori:

A. Valli - C. Comotti - C. Rovati: U.O. di Nefrologia e Dialisi - Osp. S. Chiara - Trento
 A. Peruzzini - N. Bergamo: Laboratorio Analisi - Osp. S. Chiara - Trento
 R. Viola - E. Brunelli - G. Frattin - G. Di Salvo - F. Cappelletti - G. Mosna - L. Rocchetti - M. P. Perlot: Medici di Base Provincia Autonoma Trento - Trento