

Labordiagnostik der Pilzvergiftungen unter besonderer Berücksichtigung der Vergiftungen mit dem Knollenblätterpilz *Amanita phalloides*

MARIA KLAWITTER und WANDA LASOTA

KLAWITTER, M. & LASOTA, W. 1978: Labordiagnostik von Pilzvergiftungen unter besonderer Berücksichtigung der Vergiftungen mit dem Knollenblätterpilz *Amanita phalloides*. - Karstenia 18 (suppl.).

Beschrieben wurden auch Eigenschaften der unterschiedlichen Sporen des Knollenblätterpilzes (*Amanita phalloides*) und andere Elemente, die sich im untersuchten Material von Kranken, wie Epithelzellen, Stärkekörnchen, Fetttropfen, Muskelfasern u.a., befanden.

Zur Bestätigung der sporologischen Analyse wurde das biologische Material (Harn, Erbrochene, Dialyse der künstlichen Niere) bei Personen, die vergiftet waren, durch Anwendung der Dünnschicht-Chromatographie untersucht.

Toxische Substanzen des Knollenblätterpilzes wurden vor allem im Urin nachgewiesen. Das Ziel einer biologischen Untersuchung von Ratten war, die Zeit genau zu bestimmen, in der die Ratten giftigen Substanzen des Knollenblätterpilzes ausscheiden.

Anhand dieser Untersuchungen wurde festgestellt, dass man das Vorkommen dieser-chemischen Verbindungen im Urin und im Serum innerhalb von 7 Tagen nachweisen kann.

M. Klawitter, Sanitäts-Epidemiologische Wojewodschaftsstation in Poznań, Polen.
W. Lasota, Anstalt der Bromatologia des Instituts für Umweltforschung und Bioanalyse der Medizinischen Akademie in Łódź, Polen.

Häufige Pilzvergiftungen in Polen und insbesondere Vergiftungen mit dem Knollenblätterpilz *Amanita phalloides*, die mit dem exitus letalis enden, haben uns veranlasst, Untersuchungen durchzuführen, deren Ziel die Ausarbeitung eines systematischen und möglichst schnellen diagnostischen Verfahrens war.

Die Pilzvergiftungen sind im Anfangsstadium schwer diagnostizierbar, eine frühe Diagnose der Vergiftungsursache spielt dagegen eine sehr wichtige Rolle besonders dann, wenn eine Knollenblätterpilzvergiftung in Frage kommt. Eine rechtzeitige Diagnose kann dann die richtige Behandlung sicherstellen.

In den Jahren 1964-1972 wurden 1247 Proben des biologischen, von pilzvergifteten Personen kommenden Materials untersucht. Es wurde nachgewiesen, dass das in der ersten Stunden seit Erscheinung der Vergiftungssymptome gesammelte Erbrochene den grössten diagnostischen Wert darstellt.

Das Erbrochene enthält nämlich Speisereste, darunter auch Pilzreste und deren Sporen. Im Spülicht des ersten und spätestens des zweiten Tages sind auch Sporen zu finden, vorausgesetzt, dass der Mageninhalt nicht zu sehr verdünnt ist.

Die Beobachtungen haben erwiesen, dass bei Identifizierung der Pilzvergiftungen die sichergestellten unverbrauchten Speisereste eine begünstigende Rolle spielen können.

Bearbeitet wurde ein Schema der makroskopischen Analyse von unverbrauchten Speiseresten und Erbrochenem.

Die makroskopische Analyse besteht - unabhängig von der Art des Materials - in der Abtrennung der festen Teile von den flüssigen mittels Filtration durch Sieb oder Mull. Wenn die Speise viel Fett enthält, ist die Entfettung mit einer Mischung von Äthyl- und Petroläther unentbehrlich.

Die abgetrennten Fruchtkörper oder ihre Fragmente werden makroskopisch mit binokulärer Lupe oder analytischer Lampe analysiert. Dabei wird auf den Bau des Hymenophors, die Form der Lamellen und die Fluoreszenz geachtet.

Der flüssige Teil wird dagegen mikroskopisch auf das Auftreten von Sporen untersucht.

Die sporologische Analyse wurde mit Vorbereitung einer Kollektion reiner Mustersporen von essbaren und giftigen Pilzen begonnen.

Die Sporen von reifen Fruchtkörpern wurden durch Ausschüttung, die Sporen von Fruchtkörpern dagegen in verschiedenen Reifestadien nach der Ertmannschen Methode gewonnen. Zur Erlangung eines realen Bildes, das die Identifizierung der im biologischen Material befindlichen Sporen ermöglichen würde, prüfte man sie in natürlichem Zustand, dann nach Einwirkung von 10 % iger Salzsäurelösung mit Zusatz von Pepsin und nach Kochen in Wasser.

Zur besseren Differenzierung der Sporen wurde die Färbung der Präparate nach einfachen und kombinierten, in der mikroskopischen Analyse benutzten Methoden angewendet. Es wurde festgestellt, dass die

Färbung nach einfachen Methoden nur schwach kontrastiert. Gute Resultate erzielte man nach den kombinierten Methoden. Man stellte fest, dass die Sporen von *A. phalloides* und *Russula aeruginea*, nach der Methode von Schäfer-Fulton gefärbt, rosa oder rot werden, wobei die Farbe der Hüllen intensiver ist.

Die gelben oder gelb-braunen Sporen blieben gelb, nur die Hüllen wurden rot. Die Färbung nach der Methode von Ziehl-Neelsen erwies, dass die Sporen der *Amanita* Species und *R. aeruginea* leicht blau, und die Hüllen intensiv blau gefärbt werden. Die Sporen von *Naematoloma fasciculare*, *Inocybe patouillardii* und *Gyromitra esculenta* wurden rosa, violett, oder rosa-violett mit intensiv gefärbten Hüllen.

Die Sporen von *Paxillus involutus*, *Macrolepiota procera* und *Boletus edulis* färbten sich schwach blau und die Hüllen blieben ungefärbt.

Es wurden auch Beobachtungen der Sporen in polarisiertem Licht und im Licht der UV-Strahlen mit dem Wood-Filter durchgeführt.

Man bemerkte, dass das Endosporium und das Episporium mancher Sporen im UV-Licht fluoreszieren. Dann ist die ausdrückliche Form der Sporen dunklen Lichtfeld sichtbar. Von den untersuchten Gattungen zeigten die Sporen von *Amanita* Species, *R. aeruginea*, *Agaricus campestris*, *M. procera* und *Tricholoma flavovirens* keine Fluoreszenz.

Zur Erlangung eines ausdrücklichen Bildes der Sporen besonders von *A. phalloides* und zur Unterscheidung derselben von anderen Begleitelementen wurden bei den Beobachtungen Luminophore angewandt.

Man erhielt folgendes Sporenbild von *A. phalloides*. Die Sporen gehen wegen ihrer grossen Widerstandsfähigkeit gegen die Wirkung der Magensäure in fast unverändertem Zustand in den Kot über. Der Kot kann deswegen auch als das diagnostische Material bei Pilzver-

giftungen gelten. Die Analyse des Kots besteht in der Hydrolyse der Kotmasse und Isolierung der Sporen, die in dieser Situation nicht ihre diagnostischen Eigenschaften verlieren.

Um die sporologische Analyse zu bekräftigen, untersuchte man das biologische, von vergifteten Personen stammende Material mittels der dünn-schichtigen Chromatographie, wobei man sich auf Untersuchungen von Willand stützte.

Es wurde die chromatographische Analyse des konzentrierten biologischen Materials von 35, mit dem Knollenblätterpilz vergifteten Personen durchgeführt.

Man untersuchte den Harn, das Erbrochene und die Dialysate aus der Kunstniere. Das Vorkommen von toxischen Stoffen wurde in 31 Harnproben nachgewiesen.

Die erzielten Ergebnisse weisen darauf hin, dass im Falle einer Knollenblättermvergiftung die toxischen Stoffe vor allem im Harn vorkommen und auf diesem Wege ausgeschieden werden.

Zuletzt führte man biologische Untersuchungen an Ratten durch. Das Ziel war, die Zeitdauer des Entfernens der toxischen Substanzen des Knollenblätterpilzes durch den Organismus zu bestimmen.

Es handelte sich um die Bestimmung der Zeitspanne, während der die Möglichkeit besteht, das Vorkommen von toxischen Substanzen in den Flüssigkeiten des Organismus chemisch nachzuweisen. Die Beobachtungen erwiesen, dass das Vorkommen toxischen Verbindungen des Knollenblätterpilzes in Harn und Blutserum der Ratten nach dem dargestellten chromatographischen Verfahren innerhalb von 7 Tagen nachweisbar ist.

Im Blutserum der beobachteten Tiere (Ratten) kamen Phalloidine und Amanitine vor; im Harn kam nur Phalloin, und am vierten Tage Phalloidin vor - Amanitine wurden nicht nachgewiesen.