

Intoxikationen mit Amanitinen (Knollenblätterpilz)

A. Scholer, A. Regeniter

Kantonsspital-Zentrallabor, Universität Basel, Spitalstraße 21, CH-4031 Basel, Schweiz

Zusammenfassung

Die Bestimmung der Amanitine im Blut (Serum) und/oder Urin bei Verdacht auf Amanitaintoxikation kann nicht als Entscheidungsgrundlage für die Einleitung der Therapie genügen, da erstens die analytischen Verfahren zu wenig überprüft sind (mangels Probenmaterialien) und die pharmakokinetischen (toxikokinetischen) Daten fehlen. Die Analyse der spezifischen Proteine im Urin (glomeruläre Parameter: IgG, Transferrin, Albumin, tubuläre Parameter: α_1 -Mikroglobulin retinolbindendes Protein) unterstützt wesentlich die bessere Überwachung des Verlaufs einer Nierenschädigung bei Amanitaintoxikationen (übliche Parameter: Kreatinin, Elektrolyte und Total Protein in Serum und Plasma).

1. Einleitung

Der gefährlichste Pilz ist - bezogen auf seine Toxizität - mit Abstand der grüne Knollenblätterpilz (*Amanita phalloides*, death cap, *amanita phalloides*, *ovulo malefico*). Er enthält die Toxine α , β , γ , ϵ -Amanitin, sowie Phalloidin und Phallacidin in unterschiedlichen Mengen. Andere Pilze, wie *Amanita verna* (weisser Knollenblätterpilz), *Amanita virosa* (spitzhütiger Knollenblätterpilz) u. a. enthalten einzelne dieser Toxine ebenfalls, jedoch in wesentlich geringeren Mengen. Verantwortlich für die schweren Vergiftungen sind die Amanitine.

1.1 Chemische Struktur

α -Amanitin ist ein bicyclisches Octapeptid, das ein Indol-Alkaloid enthält.

1.2 Wirkungsweise der Amatoxine

Die Toxine zerstören eukaryotische Zellen durch Hemmung der Transkription von m-RNS (Blockade der DNA-abhängigen RNS-Polymerase B) in der Leber- und der Nierzelle (Proteinsynthese in der Leber gestört).

Die Amatoxine dringen rasch in die Darmepithelzellen ein, darauf folgt eine lange Resorption ins Blut. In einer Studie von Langer et al. [1] konnten bei 70% der Patienten nach 12 h und bei 40% nach 24 h Amatoxine im Blut nachgewiesen werden. Nach 48 h waren alle Resultate negativ. Eine Korrelation zum Schweregrad konnte nicht nachgewiesen werden.

Die Ausscheidung erfolgt über Galle (ca. 60%) und, da die Amatoxine glomerulär filtrierbar sind, über die Niere. In der erwähnten Studie waren nach 12-24 h 100% der Urine positiv, nach 48 h etwa 80%.

1.3 Empfehlungen im Vergiftungsfall

Frühere Empfehlungen ergaben das folgende Vorgehen:

Ermittlung der Amanitin-Konzentration mittels eines radioimmunologischen Tests [2] und bei positivem Ausfall - Hämoperfusion zur Giftentfernung [3]. Die Wirksamkeit dieses Eingriffs ist immer wieder bestritten worden.

Die Situation heute ist folgende:

- 1) Es stehen zwei Amanitin-Teste zur Verfügung [4, 5], die wesentlich einfacher durchführbar sind (Herstellung: Fa. Bühlmann Laboratories, Schönenbuch bei Basel).
- 2) Die Empfehlungen des Schweizerischen Toxikologischen Zentrums lauten wie folgt:

Prävention: Laien sollten konsequent darauf hingewiesen werden, selbstgesammelte Pilze offiziell kontrollieren zu lassen. Dies gilt besonders für Schirmpilze mit Lamellen.

Klinik: Eine frühzeitige Diagnose ist essentiell und bedingt die Kenntnis der initialen Krankheitsphasen, die leicht mit einer beginnenden unspezifischen Nahrungsmittelintoxikation verwechselt werden können. Die charakteristischen vier Krankheitsphasen sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Phasen der Amanitin-Vergiftung

Phase	Zeitpunkt/Dauer	Klinik	Labor	Behandlung (s.Text)
I	5 - 24 h (kann bis 48 h dauern)	<u>Symptomlose Latenzphase</u> ab und zu abdominelle Schmerzen	evtl. Amanitin im Serum, Leber-, Gerinnungs-, und Nierenstatus	bei großem Verdacht sofort einleiten
II	6 - 60 h (Dauer oft 11 - 24 h)	<u>Gastrointestinale Phase</u> Exsikose, ev. Blutdruckabfall, Erbrechen, Durchfall (Azidose), abdominelle Schmerzen	Amanitin im Urin (Serum) Blutgase, Glucose, Elektrolyte, Leukozytose, Leber-, Gerinnungs- und Nierenstatus (Urinproteine)	Beginn oder Weiterführung
III	24 - 72 h (Dauer oft 2 - 24 h)	<u>Symptomarmes Intervall</u> Leberschwellung (oft erst hier Beginn des Anstiegs der Leberwerte, beginnende Niereninsuffizienz)	Amanitin Urin (Serum) Blutgase, Glucose, Elektrolyte, Leukozytose, Leber-, Gerinnungs- und Nierenstatus (Urinproteine) (Normalisierung des pH)	Weiterführung
IV	5 - 7 Tage (120 - 170 h) manchmal 24 - 48 h nach Pilzeinnahme)	<u>Endphase</u> Leberdystrophie, Koma hepaticum, totales Nierenversagen	Glucose, Elektrolyte, Leber-, Gerinnungs- und Nierenstatus, differenziertes Diagnoseverfahren, Urinproteine	Je nach Verlauf Weiterführung

Die Diagnose sollte spätestens in Phase II gestellt werden (besser Phase I). Sie kann durch eine gezielte Anamnese unterstützt und durch folgende Notfalluntersuchungen gesichert werden:

1. Makroskopische Pilzbestimmung durch einen Mykologen in Mahlzeitresten und Rüstabfällen
2. Mikroskopische Sporentestung im Mageninhalt und im Stuhl
3. Amatoxinnachweis im Urin

Eine möglichst frühzeitige Kontrolle der Leberenzyme (Transaminasen), des Bilirubins, der Gerinnungsfaktoren (Quick-Wert) und der Nierenfunktion ist angezeigt.

1.4 Therapie

a) Sofortmassnahmen (auch bei Verdachtsfällen)

1. Gründliche Magenentleerung durch Magenspülung, ev. wiederholt.
2. Verabreichung von Aktivkohle (Erw.: 30-100 g. Kinder 1-2 g/KG) und bei Fehlen von schwerer Diarrhoe zusätzliche Gabe eines Laxans (z.B. Glaubersalz 15-20 g; Kinder 0.25 g/KG) Aktivkohle sollte zusätzlich wiederholt verabreicht werden (20-50 g alle 4 h).
3. Rehydratation und Korrektur von Elektrolytstörungen
4. Silibinin (Legalon® SIL) i.v. 20 mg/kg pro Tag verteilt auf 4 Infusionen (5% Glucose oder 0.9% NaCl von je 2 Stunden Dauer während 3-5 Tagen.
5. Penicillin 1 Million E/kg pro Tag aufgeteilt in 12-24 intravenös Einzeldosen während 3 Tagen.

b) Zusätzliche Maßnahmen bei gesicherter Diagnose

1. Duodenalsonde einlegen zum kontinuierlichen Absaugen der Galle (Entzug des Amatoxins aus dem enterohepatischen Kreislauf) oder Aktivkohle repetitiv.
2. Prophylaxe und Therapie des Leberkomas nach den üblichen intermedizinschen Richtlinien. Nach neueren Befunden verbessert bei fulminantem Leberversagen die zusätzliche Gabe von hochdosiertem N-Acetylcystein i.v. (150 mg/kg in 250 ml 5% Glucose über 15 min, gefolgt von 50 mg/kg über 4 h) möglicherweise die Leberfunktion und das Überleben. Bei irreversibler schwerer Leberschädigung ist frühzeitig die Lebertransplantation in Erwägung zu ziehen.

Weitere vorgeschlagene Maßnahmen, wie z.B. die Hämo-perfusion, sind wegen fehlendem Wirksamkeitsnachweis nicht mehr angezeigt.

STIZ, Zürich 0041-1-251-51-51 oder entsprechendes Zentrum in Deutschland.

2. Kasuistik

Ein älteres Ehepaar, sie 75 und er 88 Jahre alt, wurden mit Verdacht auf eine Lebensmittel-Intoxikation ins Spital eingeliefert, weil beide bereits 34 h nach der Mahlzeit abdominelle Schmerzen, profuse Durchfälle, Uebelkeit, Erbrechen und schwere Beinkrämpfe (nur der Mann) zeigten. Nach gesicherter Aussage des Pilzkontrolleurs, dass unter den Pilzen der Mahlzeit auch Knollenblätterpilze zu finden waren, wurden die beiden Personen etwa 30 h nach Ereignis in eine Universitätsklinik verlegt. Die Pilze stammten vom Gelände im eigenen Wohnbereich des Ehepaares.

Eine Therapie gemäss Empfehlung wurde nach Eintritt ins Universitätsspital ca. 48 h nach der Mahlzeit eingeleitet. Theoretisch hätte eine andere Lebensmittelintoxikation vermutet werden können, da die Symptome bereits 3h nach Mahlzeit erschienen und die Erhöhung der Leberenzyme nur schwach war.

Trotz schwach erhöhter Leberwerte und wegen der anhaltenden Schmerzen sowie aus Kostengründen für die laufende Therapie bei beiden Personen, verordnete der Arzt mehrmals bei beiden Personen eine Amanitinbestimmung (erste Messung 33 h nach Mahlzeit bei der Frau). Beim Mann wurde erst nach 46 h eine Urinprobe auf Amanitin überprüft, die dann positiv anzeigte. Der Verlauf zeigte bei der Frau immer negative, beim Mann nach 56 h auch wieder negative Amanitinergebnisse im Urin. Der Verlauf der Ergebnisse für die Leberenzyme ist aus den Tabellen 2 und 3 für beide Personen ersichtlich. Zusätzliche ist der zeitliche Verlauf in Abb. 1 als Vielfaches der Norm dargestellt.

Tabelle 2: Verlauf der Analysenergebnisse bei der 75-jährigen Frau. Pathologische Werte sind fettgedruckt.

Zeit nach Mahlzeit h	S-ASAT U/l 11 - 36	S-ALAT U/l 10 - 37	S-GGT U/l 8 - 66	S-AP U/l 31 - 108	S-Kreatinin $\mu\text{mol/l}$ 45-93 w 60-117 m	U-Kreatinin mmol/l 6 - 34	U-IgG mg/mmol < 1.13	U-Transferrin mg/mmol < 0.19	U-Albumin mg/mmol < 2.26	U-a-1-Mikroglob. mg/mmol < 1.58	U-retinolb. Protein mg/mmol < 0.11	U-a-Amanitin $\mu\text{g/l}$ < 10
31	34	46	118	88	150							
33												< 10
40	80	105	94	76	88							
46	120	184	90	74	67							
47						13.48	2.54	1.16	12.96	6.62	0.33	
56					67							
58						14.4	1.98	1.17	10.21	15.49	< 0.11	< 10
63						17.82	0.99	0.73	5.95	12.4	< 0.11	< 10
64	302	657	80	74	65							
74	293	819	74	65	49							
89	136	638	70	66	51							
113	66	483	63	62	46							
137	34	365	67	61	49							
161					59							
185	23	164	79	70	51							
209					51							
257						7.68	0.98	0.46	6.51	4.61	< 0.11	
281	32	88	99	88	53							

Tabelle 3: Verlauf der Analysenergebnisse bei dem 88-jährigen Mann. Pathologische Werte sind fettgedruckt.

Zeit nach Mahlzeit h	S-ASAT U/l 11 - 36	S-ALAT U/l 10 - 37	S-GGT U/l 8 - 66	S-AP U/l 3-108	S-Kreatinin $\mu\text{mol/l}$ 45 - 93 w 60-117m	U-Kreatinin mmol/l 6 - 34	U-IgG mg/mmol < 1.13	U-Transferrin mg/mmol < 0.19	U-Albumin mg/mmol < 2.26	U-a-1-Mikroglob. mg/mmol < 1.58	U-retinolb. Protein mg/mmol < 0.1.1	U-a-Amanitin $\mu\text{g/l}$ < 10
46						9.53	1.01	< 0.11	14.79	6.83	< 0.11	22.6
58						13.44	1.31	< 0.11	8.04	5.34	< 0.11	< 10
62						2.22	1.76	< 0.11	27.93	50.09	< 0.11	< 10
63	569	917	20	46	154							
73	339	771	20	74	118							
88	160	512	16	41	117							
112	83	417	15	40	118							
136	47	296	17	43	137							
160	28	180	20	42	153							
184	24	128	14	40	192							
208	23	96	14	41	221							
232	20	73	15	40	230							
256						11.48	0.31	< 0.11	1.96	1.96	< 0.11	

Gemäss verschiedener Literaturstellen kann bei einer Amanitinintoxikation eine Schädigung der Niere erst nach Tagen durch Erhöhung des Kreatinins festgestellt werden. Die Abklärung der Nierenfunktion bei der Frau ergab eine mäßige Erhöhung des Kreatinins bei Eintritt und eine Normalisierung nach ~ 48 h. Beim Mann wurden aus verschiedenen nicht eruierbaren Gründen die Messung der Enzyme und des Kreatinins erst nach ~ 46 h begonnen. Dabei konnte festgestellt werden, dass die Schädigung der Niere und der Leber größer war als bei seiner Frau (Amanitin war auch nur bei ihm nachweisbar).

3. Diskussion

3.1 Kommentar zur klinischen Analytik

- Die Interpretation der Fälle als „leichte Amanita Intoxikationen“ wird durch die relativ schwache Erhöhung der Leberwerte bei beiden Personen begründet.
- Bei anderen Amanita Intoxikationen, die in der Literatur beschrieben werden [8,9], sind wesentlich fulminantere Verläufe festzustellen.
- Der sofortigen Einsatz von Massnahmen (Legalontherapie, siehe Massnahmenkatalog für die Therapie) bei Verdacht auf eine Knollenblätterpilzvergiftung (Amanitavergiftung) auch bei initial oder generell negativen Amanitin-Ergebnissen im Urin (vermutlich auch Blut) ist angezeigt, was einer der hier beschriebenen Fälle gut zeigt.
- Die Höhe der Transaminasenwerte (ASAT, ALAT) korreliert weder mit den Amanitinwerten im Blut noch mit denjenigen im Urin ($\mu\text{g}/\text{mmol}$ Kreatinin). Es fehlen uns wesentliche pharmakokinetische (toxikokinetische) Studien, die den Bezug zwischen Intoxikationsgrad und Konzentration des Toxins beschreiben. Zusätzlich sind wir analytisch erst seit kurzer Zeit fähig [7], die einzelnen Toxine mit genügender Empfindlichkeit und Richtigkeit im Blut und/oder Urin zu messen.
- Die schwachen Kreatininerhöhungen sowie die eher unspektakulären Erhöhungen der klinisch chemischen Parameter für die Überprüfung der Nierenfunktion führten bei der Frau zur Annahme, dass die begleitende Niereninsuffizienz „prärenalen“ Ursprungs sei. Beim Mann waren die Kreatininwerte nach einer vorübergehenden Erholung wegen einer Penicillinallergie wieder erhöht. Die Analyse der spezifischen Proteine im Urin zeigten bei beiden Personen sowohl glomeruläre wie tubuläre Schädigungen der Nieren (bei der Frau reversibel).

3.2 Kommentar zu den beiden Intoxikationsfällen

- Beide Fälle widerspiegeln schwache Amanitin-Intoxikationen.
- Der gute Ausgang bei beiden Personen war auf die innerhalb 24 h begonnene Behandlung gemäss Empfehlung des Schweizerischen Toxikologischen Informations-Zentrums sowie auf die vermutlich geringe Amanita-Aufnahme zurückzuführen.
- Sowohl die Leberparameter (ASAT, ALAT, γ -GT, AP und Total Bilirubin) als auch die Gerinnungsparameter (Quick, INR, ATTP), in Ausnahmefällen auch Ammoniak zusammen mit der Feindiagnostik der Nieren über die Messung der spezifischen Urinproteine können Hinweise sowohl bei der Diagnose als auch beim Verlauf einer Amanitin Intoxikation geben.

3.3 Toxikologische Analytik

Die Notfallbestimmung der Amanitine kann sowohl mittels Radioimmunoassay (RIA), als auch mittels eines Elisa erfolgen.

RIA:

Competitiver Assay mit ^{125}I gebundenem Tracer, Bühlmann Laboratories AG, Postfach, CH-4123 Allschwil

Sensitivität: Messbereich 1,5 - 400 ng/ml, Cutoff im Urin 10 ng/ml

Elisa:

Amanitin ELISA, Bühlmann Laboratories AG, Postfach, CH-4123 Allschwil

Sensitivität: 1,5 ng/ml, Messbereich: 1-100 ng/ml Cutoff im Urin 10 ng/ml

LC-MS:

Spezifischer Nachweis der Amanitine in verschiedenen Körperflüssigkeiten mittels LC-MS nach immunaffiner Extraktion

Die Spezifität der drei Methoden wird in Tabelle 4 verglichen.

Tabelle 4: Spezifitätsvergleich der Methoden zur Bestimmung von Amanitinen

Assay	α -Amanitin	β -Amanitin	γ -Amanitin	ϵ -Amanitin	Phalloidin	Phallacidin
RIA	100%	44%	100%		0.01%	?
ELISA	100%	0.1%	90%	0.1%	<0.0001%	<0.0001%
LC-MS	100%	100%	100%	?	?	?

4. Literatur

1. Langer, M. Vesconi S, Costantino D, Busi C: Pharmacodynamics of amatoxins in human poisoning as the basis for the removal treatment: In: Faulstich H, Kommerell B, Wieland TH: Amanita toxins and poisoning 90-95, Gerhard Witzstock, Baden-Baden, (1980)
2. Faulstich H, Zobeley S, Trischmann H: A rapid radioimmunoassay, using a nylon support, for amatoxins from amanita mushrooms. *Toxicon*. 20 (5), 913-924 (1982)
3. Bartels O, Grumeth M, Daniel U, Haas Th, Krämer G, Tympner F: Frühzeitige Kohle-Hämoperfusion bei Knollenblätterpilz-Vergiftung
4. Gautschi K: Central laboratory of clinical chemistry, University Hospital, CH-8091 Zürich, Switzerland (personal communication)
5. Andres R, Frei W, Gautschi K, Vonderschmitt DJ: Radioimmunoassay for amatoxins by a rapid ¹²⁵I-based system. *Clin. Chem.* 32 (9), 1751-1755, (1986)
6. Gossweiler B, Meier P: Aktuelles zur Vergiftung mit dem Knollenblätterpilz Amanita phalloides, *Schweiz. Aerztezeitung* 72 (35), 1435-1440 (1991)
7. Maurer HH, Schmitt cJ, Kraemer T. Validated electrospray LC-MS assay for determination of the mushroom toxins alpha- and beta-amanita in urine after immunoaffinity extraction. *J. Chromatogr. B* 2000; 748: 125-25.
8. Leathem AM, Pursell RA, Chn VR, Kroeger PD. Renal failure caused by mushroom poisoning. *J Toxicol Clin Toxicol* 1997,35 (1): 67 – 75.
9. Fineschi V, Di Paolo M. Centini F, Histological criteria for diagnosis of amanita phalloides poisoning, *J. Forensic Sci* 1996 May; 41 (3): 429-432.