

## AMANITA PHALLOIDES EN BOSQUES DE PINUS RADIATA DE LA IX REGION DE CHILE: TAXONOMIA, TOXINAS, METODOS DE DETECCION, INTOXICACION FALOIDIANA

E. Valenzuela<sup>1</sup>, G. Moreno<sup>2</sup> & M. Jeria<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Microbiología. Facultad de Ciencias.  
Universidad Austral de Chile. Casilla 567. Valdivia, Chile.

<sup>2</sup>Departamento de Biología Vegetal (Botánica). Facultad de Ciencias.  
Universidad de Alcalá de Henares. 28871 Madrid, España.

<sup>3</sup>Departamento de Medicina Interna. Hospital Regional de Temuco.  
Temuco IX Región Chile.

**Palabras clave:** *Amanita phalloides*, metodos de detección de toxinas, intoxicación faloidiana, taxonomía.  
**Key words:** *Amanita phalloides*, toxins detection methods, phalloidian intoxication, taxonomy.

### RESUMEN.

Se cita por primera vez para Chile *Amanita phalloides* (Vaill. ex Fr.) Secr., junto a su descripción macro y microscópica, y algunos aspectos de su ecología. Se aporta información sobre sus toxinas, métodos de detección y cuadro clínico de la intoxicación faloidiana.

### SUMMARY

[ *Amanita phalloides* in forest of *Pinus radiata* from IX Región of Chile: Taxonomy, toxins, detection methods, phalloidian intoxication ]

*Amanita phalloides* (Vaill. ex Fr.) Secr. is reported for the first time for Chile. A macro and microscopic description is given and ecological aspects are commented. Information of its toxins, detection method of the amanotoxins and clinical diagnostic of the phalloidian intoxication is given.

### INTRODUCCION.

En Chile, han sido citados algunos casos esporádicos de intoxicaciones por el consumo de setas (*Agaricales* s. l.), entre las señaladas como tóxicas se encuentran *Lepiota locañensis*, *Amanita gemmata* y *A. toxica*, lo anterior ha sido ampliamente tratado por Barriga (1935), Cabrera (1946), Behn & Jerardino (1967), Lazo (1982 a,b) y Garrido & Bresinsky (1985). A partir de 1990, durante la estación de otoño la Dra. Jeria del hospital Regional de Temuco, nos hace llegar al Instituto de Microbiología de la Universidad Austral de Chile, diversas recolecciones de setas, desde los bosques de *Pinus radiata* de la IX Región y de los alrededores de Temuco, éstas setas fueron consumidas por temporeros que realizan labores forestales y que sufrieron algún tipo de intoxicación, en algunos casos llegando a producirse la muerte de algunos de ellos. Nos señala la Dra. Jeria, que las

personas intoxicadas por consumir setas, no son lugareños sino personas provenientes de regiones más centrales del país, las cuales confunden o creen que lo que consumen es *Agaricus campestris*.

Entre las setas que hemos logrado identificar se encuentra *Amanita gemmata*, *A. toxica*, *Russula saradonia* e *Inocybe* sp. Una de estas, debido al estado avanzado de descomposición del basidioma y la ausencia de datos de campo, sólo nos permitió llegar al género *Amanita*. En 1992 se logró recolectar, anotar los datos de campo y fotografiar diversos estadios de la seta asignada al género *Amanita*, con estos nuevos antecedentes más las características microscópicas llegamos a determinar que, correspondía a *Amanita phalloides*, una de las setas más tóxicas conocidas.

### MATERIAL Y METODO.



Las reacciones químicas sobre la cutícula de los basidiocarpos, láminas y carne, se realizaron con hidróxido de potasio 10% y ácido sulfúrico. Las preparaciones microscópicas se montaron en hidróxido de sodio 5%, hidróxido de potasio 10%, rojo congo amoniacal, reactivo de Melzer y agua destilada.

El material estudiado se conserva en el herbario del Departamento de Biología Vegetal (Botánica), de la Universidad de Alcalá de Henares (AH) y un duplicado en el herbario particular (E. Valenzuela), Universidad Austral de Chile.

## RESULTADOS Y DISCUSION.

*Amanita phalloides* (Vaill.ex Fr.) Secr.Mycogr. Suisse 1:8 (1833).

**Material estudiado:** Bajo *Pinus radiata* D. Don. Alrededores de Temuco 3-VII-1990. Leg.M. Jeria. AH 15080. Bajo *Pinus radiata* D. Don. Temuco 27-III-1992. Leg. M. Jeria. AH 15081. (Fotografía pág. 21)

**Macroscopía:** Píleo de 5-12 cm de diámetro, al principio ovoide a subgloboso, luego convexo extendido, de color verdoso-amarillento a gris-aceitunado, con fibrillas adnadas y radiales de color oliváceo, aunque a veces difíciles de observar, a veces con restos de volva en forma de placas blancas. Margen entero, no estriado, incurvado y en la madurez plano, frecuentemente más pálido, láminas libres, desiguales, anchas, blancas con un ligero reflejo amarillento-verdoso, con  $H_2SO_4$  toman un color violeta débil. Arista entera y concolora a la lámina. Estípite de 7,5-12 x 1-2 cm blanco a débilmente verdoso-amarillento, casi cilíndrico, que va aumentando de grosor hacia la base, donde forma un bulbo ovoide. Volva saciforme en la base formada por tres a cuatro lóbulos libres en la mitad superior, membranosa, blanquecina por fuera y algo verdosa-amarillenta por dentro. Anillo súpero, amplio, espeso, colgante, algo estriado en la cara superior, de color blanco. Carne de color blanco. Sabor dulzaino. Olor fúngico que se hace muy fétido en la madurez.

**Microscopía:** Esporas de 8-11 (13) x 7-9  $\mu m$ , ovoides a subglobosas, lisas, de paredes delgadas, hialinas y amiloides. Basidios de 32-40 x 4-10  $\mu m$ , claviformes, tetraspóricos, hialinos sin fíbulas. Cistidios no observados. Pileipellis filamentosa formada por hifas cilíndricas de 2-7  $\mu m$  de diámetro. Volva formada por una capa de hifas filamentosas de 2-8  $\mu m$  de diámetro con células terminales claviformes a fusiformes de 200 x 30  $\mu m$ . Anillo formado predominantemente por hifas filamentosas de 2-8  $\mu m$  de diámetro con incons-

picuas células terminales piriformes que miden de promedio 40 x 25  $\mu m$ .

**Observaciones:** Especie que se caracteriza en su estado juvenil por su forma ovoide de color blanco, debido al velo universal que la cubre. En la madurez por su píleo de color verde-amarillento, sus láminas blancas y su estípite que presenta en su parte basal una volva saciforme. Puede ser confundida con estadios juveniles del género *Agaricus*, pero este último género presenta en estados de madurez un píleo escamuloso o liso de color blanco, o coloreado (cafésoso, amarillento oscuro, etc.), el estípite puede presentar un anillo simple o doble el cual puede ser fugaz, láminas libres, profundamente coloreadas, que se tornan de color rosado y luego pardo púrpura debido a las esporas. Además las especies del género *Agaricus* no presentan volva y sus esporas son lisas de color pardo chocolate con o sin poro germinativo.

*Amanita phalloides* es una especie muy común durante el otoño en Europa, de acuerdo a Moreno & al. (1986), y que establece micorrizas ectótroficas con especies del género *Quercus* (*Q. ilex*, *Q. rotundifolia*, *Q. pyrenaica* y *Q. robur*) e incluso con caducifolios como castaños, avellanos, abedules y hayas. Más escasas en bosques de coníferas. Además, nos señala que *A. phalloides* se encuentra implicada en el 90% de los fallecimientos por ingestión de setas tanto en España como en Francia, en este último país ha causado más víctimas que la poliomiélitis o el tétano. En Norteamérica de acuerdo a Jenkins (1986), fructifica de Septiembre a Noviembre en el noreste y Noviembre a Enero en el oeste, en bosques de abeto, abeto del Canadá, encina y pino. Se distribuye desde Massachusetts a Virginia, oeste de Ohio: NW del Pacífico a California.

En Sudamérica de acuerdo a Garrido & Bresinsky (1985) se encuentra en Argentina y Uruguay, formando micorrizas ectótroficas con especies del género *Quercus* y *Pinus*.

En nuestro país de acuerdo a los antecedentes expuestos, pensamos que ha sido introducida con especies del género *Pinus*, posiblemente con *Pinus radiata*.

## TOXINAS, METODOS DE DETECCION Y CUADRO CLINICO DE LA INTOXICACION FALOIDIANA.

**Toxinas:** La sustancia hemolítica que en el pasado se llamó "falina" y que en la década de los años 30 se denominaron "falodina y amanitina", se han desglosado actualmente en varias familias de componentes que se pueden agrupar así Amanitotoxinas: falolisin, falotóxicas, virotoxinas y amatoxinas, algunos autores franceses piensan que tales sustancias serían



sólo fragmentos de cuerpos complejos mucho mayores (*miriamaninas*).

El grupo de las *falolisinas* comprende proteínas hemolíticas, de las cuales al parecer son más potentes que las que contiene *Amanita verna* que *A. phalloides*; son toxinas que se destruyen a más de 65°C de temperatura o por la acción de los jugos gástricos. No causan daño por vía oral.

El grupo de las *falotoxinas* (*faloidina*, *faliscina*, *falacidina*, *falacina*, *falicina*, *faloína* y *profaloína*), comprende ciclopéptidos formados por siete aminoácidos unidos en cadena cerrada y formando doble ciclo mediante un enlace entre triptófano y cisteína. En animales de laboratorio, produce la muerte en pocas horas tras ser inyectada, causa hemorragias internas en el hígado y ataca a las membranas de las células hepáticas, haciéndolas perder potasio. Estas toxinas no se absorben por el tracto digestivo y es lógico que no intervengan en la intoxicación humana. Igual ocurre con el grupo de las *virotoxinas* (*viroidina*, *desoxiviroidina*, *desoxivirosina*, etc.) presentes en *A. virosa*, péptidos monocíclicos que no actúan por vía oral.

Las *amatoxinas* es el grupo responsable de las intoxicaciones humanas, las más importantes son las *amanitinas*, especialmente las denominadas *alfa*, *beta* y *gamma*. Las *amanitinas* son ciclopéptidos formados por ocho aminoácidos, algunos muy corrientes (glicina, isoleucina, cisteína, asparragina, hidroxiprolina y un triptófano hidroxilado). El azufre de una cisteína sirve de enlace para formar la estructura bicíclica de la molécula.

Las *amanitinas* no se destruyen por la cocción ni la desecación. Actúan a nivel del núcleo celular interfiriendo con la enzima RNA-polimerasa II, bloqueando la síntesis proteica. Las células preferidas para el ataque son las intestinales y del hígado, por lo que, si el número de células necrosadas es alto se produce la muerte de la víctima.

La dosis mortal de *amanitinas* para el hombre, es de 0,1 mg por kg de peso corporal, es decir 5 a 10 mg para un adulto.

El contenido de *amanitina* varía en los distintos basidiomas de *A. phalloides*, con la edad de la seta, la temperatura, humedad y otros factores desconocidos, se dan cifras que van de 2,1 a 7,3 mg de *amanitina* por g de seta seca, un ejemplar mediano, de 50 g de *A. phalloides* es suficiente para matar una persona, para una seta así, en fresco se calcula un contenido medio de 4 mg de *alfa-amanitina*, 2,5 de *beta-amanitina* y 0,2 de *gamma-amanitina*.

**Método de detección de toxinas:** Un procedimiento muy sencillo para detectar *amatoxinas*, es el test de

Wieland en papel periódico. Sobre el papel no satinado y en una pequeña zona sin letras delimitada previamente con lápiz, se presiona la seta fresca para que lo moje, cuando se haya secado la mancha, se le agregan una o dos gotas de ácido clorhídrico concentrado (6-9 N. de acuerdo a diversas publicaciones), luego de 5-10 minutos la mancha se pone de color verdeazulado o azul si el hongo contenía más de 0,02 mg de *amatoxinas* por ml. Siempre se debe realizar un testigo sólo con HCL. La prueba no siempre es decisiva, pues se han dado casos de *Amanitas* negativas y positivas en diversas especies inofensivas; pero se recomienda por ser una prueba tan fácil de realizar y proporcionar pistas útiles.

Métodos más elaborados requieren la extracción previa de la toxina con metanol, para lo cual fragmentos de seta se maceran en metanol, se calienta todo a 70°C durante media hora, luego se filtra o centrifuga y el extracto se evapora al vacío. El residuo se lava varias veces con metanol, evaporando varias veces para eliminar impurezas, si se desean eliminar grasas de la muestra, se puede extraer (tras deshidratación) con benceno en un aparato Soxhlet corriente. Para mayor pureza se pueden eliminar sales haciendo pasar una solución acuosa del extracto por columnas de resina tipo amberlite.

La detección más sencilla de la toxina a partir del extracto metanólico, se hace por cromatografía sobre papel, empleando como solventes mezclas a base de, por ejemplo, metilacetona, acetona, agua y butanol (20-6-5-1). Otro método es la cromatografía en capa fina (TLC) de gel de sílice (placa de sílica gel), empleándose como solventes mezclas de cloroformo, butanol, etanol, ácido acético y agua (5-55-10-15-15 v/v). Más ventajosa resulta la variante denominada HPLC, que puede usar mezclas de solventes como la de cloroformo, metanol, ácido acético glacial y agua (75-33-5-7,7 v/v), o usar agua en columnas Sephadex LH-20.

Para visualizar los resultados de cualquiera de los métodos cromatográficos señalados, se pulveriza con aldehído cinámico (al 1% en metanol), dejar secar y colocar en un ambiente de vapores de ácido clorhídrico. Las *amanitinas* producirán así manchas de color violeta y las *faloidina* de color azul. La localización de las manchas se compara con patrones estándar. En total se requieren menos de 3 horas.

Para el cálculo de la cantidad de toxina se emplea la espectrofotometría, o la capacidad de las *amatoxinas* para inhibir la RNA-polimerasa. Otro método es el radioinmunoanálisis (RIA), el límite de detección de este método es de 3 ng/ml, pero hay que hacer notar que las *amatoxinas* sólo pueden detectarse en el suero durante las primeras 36 horas después de la



ingestión de las setas; en la orina es posible hasta los 3-4 días.

#### **Cuadro clínico de la intoxicación faloidiana.**

**Síntomas:** El período de incubación suele ser de 7 a 15 horas, clásicamente la intoxicación faloidiana se describe en tres fases: gastrointestinal, de remisión aparente y hepática.

Los primeros síntomas, suelen ser los de una gastroenteritis, con vómitos incesantes y después diarrea copiosa líquida y maloliente (a veces con sangre), dolores fuertes de estómago y sudores. La pérdida intensa de líquido e iones produce deshidratación y desequilibrio electrolítico, y como consecuencia, mucha sed, mucosas secas, debilidad, hipotensión, calambres dolorosos, frío en los miembros, pérdida rápida de peso, ojos hundidos, pulso débil y rápido, orina escasa. Analíticamente se puede encontrar aumento de concentración sanguínea (hematocrito mayor de 50%), aumento de proteínas en la sangre, descenso de potasio y a menudo descenso de sodio y acidosis. Esta fase gastrointestinal dura al menos dos días, y durante ella puede haber alguna muerte por shock vascular o por paro cardíaco por falta de potasio. Luego de esta fase aguda los síntomas desaparecen durante algunas horas, lo que hace pensar que el enfermo ya no está en peligro, pero la calma es engañosa y puede conducir a abandonos terapéuticos.

La tercera fase, es la más grave, debido a que durante ella, las toxinas atacan al hígado. Como consecuencia de lo anterior, se produce aumento del volumen doloroso de la víscera, subictericia y hemorragias. Suele haber gran aumento de transaminasas, lactodehidrogenasa, guanasa y bilirrubinemia, alteración de la glucemia y descenso de los factores de coagulación. En casos de fallo hepático grave se puede producir encefalopatía, con los siguientes síntomas nerviosos: somnolencia o agitación, a veces euforia, convulsiones e incluso coma.

En cualquier fase se puede producir insuficiencia renal, con ausencia de orina y subida de urea y creatina en el plasma. A veces se producen trastornos cardíacos, obstrucción bronquial, edema pulmonar, alteraciones suprarrenales, pancreatitis.

La muerte sobreviene por hemorragias internas o coma hepático tras un número de días que dependen generalmente de la resistencia del paciente. Pero si éste acudió y fué tratado debidamente en el hospital puede salvarse y su recuperación suele ser completa sin secuelas.

**Tratamiento:** La finalidad del actual tratamiento procura, extraer pronto del cuerpo la mayor cantidad posible de amatoxinas y mantener controlado el

equilibrio interno de líquidos e iones. En primer lugar se deben eliminar los restos de setas que quedan en el aparato digestivo, mediante lavado intestinal (con sonda), no se deben evitar vómitos y diarreas que ayudan a expulsar los restos; incluso si no ocurren se pueden provocar con eméticos y purgantes. En el mismo sentido, para la eliminación de toxinas, es muy útil la administración periódica, por la boca o por sonda de carbón activo (por ejemplo, 30g en 60 cc de agua). Lo más efectivo para la eliminación de toxinas es forzar su salida por el riñón, lo más aconsejable es conseguir que la persona orine mucho, se puede forzar la diuresis con la administración de mucho líquido y recurriendo a diuréticos en caso necesario. Otro aspecto a tener en cuenta es el ciclo enterohepático de la bilis, ya que cierta cantidad de toxinas sale del hígado con la bilis y se reabsorbe normalmente en el tramo inferior del intestino delgado para volver al hígado, se recomienda interrumpir este ciclo aspirando bilis mediante una sonda duodenal. La administración de líquidos y electrolitos evita la deshidratación, restaura el equilibrio iónico del medio interno, además, permite una diuresis abundante; para conseguir lo anterior se administra por vía intravenosa suero ya sea glucosado, salino, alcalino, etc., pero las cantidades o el tipo de suero dependen de los datos analíticos que proporciona el control sanguíneo continuo. Mientras llega el médico, se aconseja al enfermo, una ingestión cada hora de un vaso de agua fría levemente salada.

No existe todavía un verdadero antídoto contra esta intoxicación, pero se han recomendado sustancias muy diversas, la mayoría protectores hepáticos. Ejemplos de estos son: inositol, alfaetoglutarato de ornitina, uridin 5-difosfoglucosa, inhibidores de proteínas, vitamina B1, vitamina C en grandes dosis, citocromo C, corticoides como dexametasona prednisolona, estreptomycin, n-acetil cisteína, espironolactona, etc. Se deben evitar los medicamentos nocivos para el hígado en especial el alcohol y las tetraciclinas. Se emplea también durante el tratamiento penicilina G por vía intravenosa, si el enfermo no es alérgico. Resumiendo los pasos a considerar en el tratamiento tenemos el siguiente esquema:

- Hospitalización rápida.
- Eliminación de la mayor cantidad posible de toxina: lavado intestinal, carbón activo, diuresis forzada, sonda duodenal (o al menos nasogástrica); a veces hemoperfusión.
- Aplicación de sintomáticos contra la deshidratación (líquidos), desequilibrio electrolítico (sueros con cloruro sódico, cloruro potásico, etc.), alteraciones de la glucemia, descenso de los factores de coagulación (vitamina K, plasma).



- Protectores hepáticos y coadyuvantes: vitamina C ácido tióctico, penicilina G, silibinana, etc.

Indicamos a los lectores interesados en este tema que los datos expuestos pueden ampliarse en las publicaciones de García Rollan (1990) y Moreno & al. (1986). Actualmente uno de los especialistas españoles en este tipo de intoxicaciones es el Dr. J. Piqueras (Jefe de Servicio Departamento de Hematología y Hemoterapia. Hospital General "Vall d'Hebron", E-08035, Barcelona, España).

#### AGRADECIMIENTOS.

Queremos agradecer a la Agencia Española de Cooperación Internacional del Ministerio de asuntos Exteriores. Secretaría de Estado para la Cooperación Internacional y para Iberoamérica, la concesión a uno de los autores (E. Valenzuela), de una beca para la realización del Doctorado en la Universidad de Alcalá de Henares.

**Figura 1.** *Amanita phalloides*



#### REFERENCIAS.

- Barriga, M., (1935). Intoxicaciones por hongos. Bol. Soc. Med. Chile 63: 580-581.
- Behn, F., & Jerardino, M., (1967). Intoxicaciones con *Amanita gemmata* (Fr.) Gillet. Nutr. Bromatol. Toxicol. 6: 154-195.
- Cabrera, R., (1946). Hongo Chileno venenoso. Agr. Tec. Chile 6: 78.
- García Rollan, M., (1990). Setas venenosas intoxicaciones y prevención. Ed. Ministerio de Sanidad y Consumo. Secretaría general técnica. Paseo del Prado 18 Madrid España. 213 págs.
- Garrido, N. & Bresinsky, A., (1985). *Amanita merxmuelleri* (Agaricales) eine neue Art aus Nothofagus-waldern Chiles. Bot. Jahrb. Syst. 107: 521-540.
- Jenkins, D., (1986). Amanita of North America. Editorial Mad River Press. Eureka. 198 págs.
- Lazo, W., (1982a). Introducción al estudio de los hongos superiores. Bol. Micol. 1: 19-30.
- Lazo, W., (1982b). Hongos venenosos en Chile. Bol. Inst. Salud Pub. de Chile 23: 122-126.
- Moreno, G., Manjón, J. L. & Zugaza, A., (1986). La guía de Incafo de los hongos de la Península Ibérica. Vols I y II. Incafo Madrid. España.