Reagieren amyloige und dextrinoide Sporen aus gekochten und verspeisten Pilzstückchen mit Melzer-Reagens noch positiv?

Autor(en): **Flammer, R. / Tinner, H.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizerische Zeitschrift für Pilzkunde = Bulletin suisse de mycologie**

Band (Jahr): **79 (2001)**

Heft 3

PDF erstellt am: **27.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-935744

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Reagieren amyloide und dextrinoide Sporen aus gekochten und verspeisten Pilzstückchen mit Melzer-Reagens noch positiv?

Flammer, R., Fichtenstr. 26, 9303 Wittenbach
Tinner, H., Wiesenstr. 10, 9303 Wittenbach

Fragmente aus dem Mageninhalt können wichtige Hinweise auf den allfälligen Verzehr von Giftpilzen geben. Die Arbeitsanweisung «Mykologische Notfalldiagnostik» (1) enthält daher auch Grundlagen über Isolation, Bearbeitung sowie Beurteilung der in den Fragmenten vorhandenen Pilzsporen.

Das Arbeitsheft von Dr. med. R. Flammer (1) hat folgende Zielsetzungen:

- Praktische Anleitung zur Diagnose von Pilzvergiftungen
- Notwendige Geräte und Chemikalien (Notfallset)
- Schnelles und sicheres Erkennen möglicher Pilzvergiftungen
- Möglichkeiten und Grenzen mykologischer Notfalldiagnostik unter Zeitdruck zu erkennen
- Anwendbarkeit der Anleitung für Mykologen unterschiedlichen Ausbildungsgrades. Allerdings sind einige Grundlagenkenntnisse zwingende Voraussetzung
- Fähigkeit, die festgestellten Befunde und Schlussfolgerungen einem Arzt verständlich mitzuteilen
- Eigene Untersuchungsergebnisse klar und sicher zu formulieren

Schmackhafte Speisen regen den Speichelfluss in der Mundhöhle an. So ist anzunehmen, dass auch ein wohlriechendes, Giftpilze enthaltendes Gericht diese sympathischen Reflexe nicht vermissen lässt. Wenn die Pilze nicht in heisshungriger Manier verschlungen werden, sind genüssliche Kaubewegungen für eine angemessene Einspeichelung und Zerkleinerung der Pilze verantwortlich. Pilze sind jedoch selbst in gekochter Zubereitung ziemlich zäh und schwer verdaulich, sodass in rekuperiertem Mageninhalt Pilzstückchen gefunden werden können.
Mundspeichel enthält alpha-Amylase (Ptyalin). Dieses Enzym spaltet alpha-glucosidische Bindungen von veschiedenen Polysacchariden zu kurzkettigen Molekülen und Zucker. Gut gekautes Brot empfinden wir daher im Mund als süsslich.

Der Nachweis von Stärke mit Jod ist einfach und wird sehr oft benutzt. Auch in der Mykologie wird Jod (Melzer-Reagens: 0,5 g Jod, 1,5 g Jodkali, 20 ml Wasser) zum Nachweis und zur Differenzierung amyloider und dextrinoider Pilzsporen routinemässig verwendet.
Sind Sporen aus Pilzstückchen noch mit Melzer-Reagens anfärbbar, wenn alpha-Amylase auf Pilzstückchen unter den in der Tabelle 2 angegebenen Bedingungen einwirkt?

Stärke soll zur Aufspaltung mit alpha-Amylase in Zucker und kurzkettige oligo-Saccharide verkleistert werden. Dieser Test (Tabelle 1) hat zum Ziel, die Enzymkonzentration so zu wählen, dass in Pilzsporen vorhandene, mit Jod anfärbbare Polysaccharide mit alpha-glucosidischer Bindung unter den gewählten Bedingungen abgebaut werden können.

Der Test zeigt, dass das gewählte Enzympräparat («Fungamyl») unter den beschriebenen Bedingungen Stärke vollständig abzubauen vermag. Für die in Tabellen 2 und 3 beschriebenen Versuche verwendeten wir die doppelte Amylase-Konzentration verglichen mit Versuch b) Tabelle 1.

Wir inkubierten eine alpha-Amylase enthaltende Sporensuspension von *Amanita phalloides* 12 Stunden bei 35–40 °C (Die Sporensuspension wurde 1 Stunde im siedenden Wasserbad vorbereitet).
Mit Melzer-Reagens werden diese Sporen immer noch hell oliv-grau gefärbt. Die Zellwand erscheint markant dunkel gefärbt und unterscheidet sich im Mikroskop augenfällig von frischen, hyalinen nicht angefärbten Sporen.
Die Amyloidität geht selbst durch Kochen und Inkubation in verdünnter Salzsäure von pH 2, pH 4 und pH 6 während 12 Stunden nicht verloren.

Tabelle 1: Dosierungstest für das alpha-Amylasepräparat.

Kartoffelflocken	a) 0,5 mg	b) 0,5 mg
Leitungswasser	20 ml	20 ml
Verkleistert im siedenden Wasserbad	1 Stunde	1 Stunde
Reaktion mit Lugol verdünnt	+++ blau	+++ blau
Enzympräparat «Fungamyl»	0,5 ml	1,0 ml
Inkubation bei 35–40 °C	1 Stunde	1 Stunde
Reaktion mit Lugol verdünnt	leicht blau	rot
Inkubation bei 35–40 °C	2 Stunden	2 Stunden
Reaktion mit Lugol verdünnt	sehr schwach blau	**sehr leicht rosa**

Tabelle 2: Jodreaktion der in Pilzstückchen enthaltenen Sporen mit Melzer-Reagens unter den beschriebenen Versuchsbedingungen.

	Russula viscida Lederstiel-Täubling	*Melanoleuca grammopodia* Ringstieliger Weichritterling	*Hygrophoropsis aurantiaca* Falscher Eierschwamm	*Amanita phalloides* Grüner Knollenblätterpilz
Pilzstückchen + 10 ml Wasser im siedenden Wasserbad	1 Stunde	1 Stunde	1 Stunde	1 Stunde
«Fungamyl»-Enzym	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
Inkubation bei 35–40 °C	1 Stunde	1 Stunde	1 Stunde	1 Stunde
Sporen aus Pilzstückchen (1000fach vergrössert)	amyloid Ornamente gut erhalten	amyloid Ornamente gut erhalten	dextrinoid	schwach amyloid
Inkubation bei 35–40 °C	2 Stunden	2 Stunden	2 Stunden	2 Stunden
Sporen aus Pilzstückchen (1000fach vergrössert)	amyloid Ornamente gut erhalten	amyloid Ornamente gut erhalten	dextrinoid	schwach amyloid Farbe olivgraugrün, nicht deutlich blau

Tabelle 3: Langzeitversuch (12 Stunden) bei einem pH-Wert von etwa 4,5.
(Pilzstückchen + 10 ml Wasser/Salzsäure, pH etwa 4,5 + 1 ml «Fungamyl»-Enzym, Inkubation 12 Stunden bei 35–40 °C.)

	Russula viscida	*Melanoleuca grammopodia*	*Hygrophoropsis aurantiaca*	*Amanita phalloides*
Sporen aus Pilzstückchen (1000fach vergrössert)	amyloid Ornamente gut erhalten	amyloid Ornamente gut erhalten	dextrinoid	schwach amyloid Farbe olivgraugrün, nicht deutlich blau

Zusammenfassung
Die Modellversuche lassen den Schluss zu, dass Sporen enthaltende Pilzstückchen aus Mageninhalt sehr gut zur Identifikation der verspeisten Pilze beigezogen werden können. Offenbar sind die Sporen im Hymenium des Pilzes «geschützt», sodass die Jodreaktion und dadurch die Bestimmung von Sporen bestimmter, giftiger Pilze noch Stunden nach dem Verzehr möglich ist.
Im Hymenium eingebettete amyloide und dextrinoide Pilzsporen sind mit Melzer-Reagens gut zu erkennen. Frei schwimmende amyloide Sporen zeigen mit Melzer-Reagens nur eine mit viel Übung zu erkennende oliv-graugrüne Farbtönung.

1. Flammer, R., (2000), Mykologische Notfalldiagnostik, Privatverlag, Fichtenstr. 26, 9303 Wittenbach.

R. Flammer, H. Tinner: Problème à résoudre (résumé)

Les auteurs se sont demandé s'il était possible de reconnaître si des spores de champignons cuisinés et consommés réagissent encore au Melzer pour contrôler si elles sont amyloïdes ou dextrinoïdes.
Dans leur recherche expérimentale, ils ont tenu compte des facteurs suivants:
- Les champignons étudiés *(Russula viscida, Melanoleuca grammopodia, Hygrophoropsis aurantiaca, Amanita phalloides)* ont été cuits durant une heure;
- à la mastication, la ptyaline (alpha-amylase) décompose divers polysaccharides en molécules plus simples; pour imiter cette action, on a incubé pendant 1 ou 2 heures les champignons précuits dans une préparation enzymatique, le «Fungamyl» (tableau 2);
- quelle que soit l'activité masticatrice, on trouve toujours dans l'estomac de petits morceaux des champignons consommés;
- la digestion stomacale se fait en milieu très acide; pour imiter ce milieu, on a plongé les champignons pendant 12 heures à 35–40 °C dans une solution d'acide chlorhydrique (pH environ 4,5);
- le test de dosage (tableau 1) avait pour but, à partir de flocons de pommes de terre, de déterminer la concentration enzymatique («Fungamyl») nécessaire pour décomposer totalement l'amidon en sucre et en oligo-saccharides simples; pour les essais décrits dans les tableaux 2 et 3, on a utilisé une concentration double de celle de la seconde colonne (b) du tableau 1.

Résultats
- L'amyloïdité de spores libres nageant dans la préparation n'est lisible qu'avec une longue expérience (coloration gris-vert olivacé);
- il est plus facile de reconnaître dans le Melzer si des spores encore fixées dans l'hyménium des petits morceaux de champignons sont amyloïdes ou dextrinoïdes, soit après les avoir traités au «Fungamyl» (tableau 2), soit après les avoir, de plus, plongés dans la solution acide (tableau 3); en particulier, les spores d'amanite phalloïde sont encore colorées en gris olivacé sous l'action du réactif de Melzer;
- les observations doivent se faire au grandissement x1000 (immersion).

Conclusion
Ces expériences démontrent que l'observation des spores présentes dans des morceaux de champignons extraits du contenu stomacal peuvent aider à l'identification des espèces consommées. Il apparaît que les spores encore fixées sur l'hyménium sont d'une certaine façon «protégées», de sorte que la réaction au Melzer est encore possible des heures après l'ingestion, permettant alors une détermination de spores de champignons toxiques.

Remarque
Le Dr Flammer a rédigé un cahier intitulé **«Mykologische Notfalldiagnostik»**, publié à compte d'auteur, à l'intention des contrôleurs diplômés VAPKO qui désirent seconder le corps médical en cas d'intoxications par des champignons. (rés.: F. Brunelli)