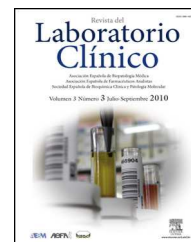




Revista del Laboratorio Clínico

www.elsevier.es/LabClin



REVISIÓN

Amanitinas



Salvador Ventura, Cristina Ruiz, Elena Durán, Marta Mosquera,
Fernando Bandrés, Francesc Campos, Bartomeu Castanyer,
Juan Fernando Izquierdo, Elena Llorente, Jordi To-Figueras y Josep M. Queraltó*

Comisión de Toxicología Clínica y Monitorización de Fármacos, Comité Científico, Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC), Barcelona, España

Recibido el 18 de diciembre de 2014; aceptado el 15 de mayo de 2015
Disponible en Internet el 17 de julio de 2015

PALABRAS CLAVE

Toxicología;
Setas;
Hepatotoxicidad;
Amanita phalloides

Resumen La intoxicación por consumo de hongos es un fenómeno estacional que se produce con relativa frecuencia en áreas geográficas donde es habitual su consumo, en especial de especies silvestres. Dependiendo del tipo de hongo ingerido pueden aparecer distintos cuadros clínicos (gastrointestinal, nefrotóxico, alucinatorio, etc.). El cuadro más grave es el hepatotóxico, asociado a una alta mortalidad, y causado por hongos que contienen amatoxinas (síndrome ciclopeptídico). Presentamos una revisión actualizada de las características de las amatoxinas, su cinética y mecanismo de acción, los métodos utilizados para su determinación analítica, así como las diferentes opciones para el tratamiento de la intoxicación.

© 2014 AEBM, AEFA y SEQC. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

Toxicology;
Mushrooms;
Hepatotoxicity;
Amanita phalloides

Amanitines

Abstract Mushroom poisoning is a seasonal phenomenon that occurs relatively frequently in geographical areas where its consumption is common. Depending on the type of fungus ingested different clinical symptoms (gastrointestinal, nephrotoxic, hallucinatory, etc.) can occur. Hepatotoxic syndrome caused by fungi containing amatoxins is the most serious condition, associated to high mortality. We present an updated review of amatoxins characteristics, kinetics, mechanism of action, methods used for analytical determination, as well as the different options for the treatment of poisoning.

© 2014 AEBM, AEFA y SEQC. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La intoxicación por ingestión de hongos silvestres no comestibles puede ser grave y potencialmente mortal. Aunque es poco frecuente, algunos autores apuntan a un aumento de la incidencia de casos de intoxicación^{1–3}.

* Autor para correspondencia.
Correo electrónico: jqueralto@santpau.cat (J.M. Queraltó).

Tabla 1 Especies productoras de amatoxinas. En el género *Lepiota* se incluyen solo las especies que se ha comprobado que contienen amatoxina, aunque posiblemente otras 8 especies puedan también producir amatoxinas

Género	<i>Amanita</i>	<i>Conocybe</i>	<i>Galerina</i>	<i>Lepiota</i>
Especie	<i>Bisporigera</i> <i>Decipiens</i> <i>Hygroscopica</i> <i>Magnivelaris</i> <i>Phalloides</i> <i>Suballiaceae</i> <i>Tenuifolia</i> <i>Verna</i> <i>Virosa</i>	<i>Filaris</i>	<i>Autumnalis</i> <i>Badipes</i> <i>Beinrothii</i> <i>Fasciculata</i> <i>Helvoliceps</i> <i>Marginata</i> <i>Sulcipes</i> <i>Unicolor</i> <i>Venerata</i>	<i>Brunneoincarnata</i> <i>Brunneolillaceae</i> <i>Castanea</i> <i>Clypeolarioides</i> <i>Fulvella</i> <i>Griseovirens</i> <i>Heimii</i> <i>Helveola</i> <i>Josserandii</i> <i>Kuehneri</i> <i>Langei</i> <i>Ochaceofulva</i> <i>Pseudohelveola</i> <i>Subincarnata</i> <i>Xanthophylla</i>

De las más de 5.000 especies de hongos conocidos aproximadamente unos 50 son tóxicos. Varios grupos de toxinas procedentes de estos hongos son causantes de cuadros clínicos graves: ciclopéptidos, giromitrina, muscarina, coprina, ácido iboténico, muscimol, psilocibina, orellanina, norleucina alénica, miotoxinas, etc. Entre los géneros de hongos responsables de la mayoría de muertes están *Amanita*, *Conocybe*, *Galerina* y *Lepiota* (tabla 1)^{4,5}. *A. phalloides* contiene una mayor proporción de toxinas por peso entre las que se encuentran varias familias de ciclopéptidos: falotoxinas, virotoxinas y amatoxinas⁶. Las falotoxinas son heptapéptidos cíclicos térmicamente poco estables de aproximadamente 800 de masa molecular relativa. Actúan fijándose a la actina globular G impidiendo su polimerización en filamentos de actina F, lo que conduce a una desorganización del citoesqueleto y a la muerte celular⁷. La lesión de la membrana celular de los enterocitos explicaría las náuseas, vómitos y diarrea que constituyen los primeros síntomas clínicos de la intoxicación⁸. No obstante, su escasa biodisponibilidad limitaría considerablemente su contribución al cuadro tóxico⁹⁻¹¹. Las virotoxinas (viroidina, viroisina, desoxiviroidina y desoxiviroidina) son heptapéptidos monocíclicos característicos de *A. virosa*, pero presentes igualmente en la *A. phalloides*. Poseen actividad biológica y toxicidad similar a las falotoxinas, con algunas diferencias estructurales como la presencia aminoácidos insólitos como 2,3-trans-3,4-dihidroxi-L-prolina y 2'-(metilsulfonil)-L-triptófano o que en las virotoxinas se halla una D-serina en lugar de la L-cisteína de las falotoxinas. Por último, las amatoxinas son octapéptidos bicíclicos que actúan de forma más lenta y mucho más intensa que los heptapéptidos, resultando ser unas 10 a 20 veces más tóxicas⁶. Desde el punto de vista toxicológico, la α - y la β -amanitina destacan entre los más de 40 miembros de la familia de las amatoxinas por ser responsables de un 90% de las intoxicaciones letales, muy por encima de otros que poseen una toxicidad limitada (tabla 2)^{12,13}. Son sustancias liposolubles y termoestables que no se descomponen ni se desnaturalizan si se congelan, cuecen o procesan de otras formas. Su potencial letal es grande, ya que

pueden estar presentes en una cantidad superior a los 0,1-0,3 mg/kg, valor considerado como dosis mortal para seres humanos¹⁴⁻¹⁶, de modo que el consumo de una sola seta puede ser fatal¹⁷. El contenido de amanitinas en hongos es muy variable (entre 2 y 7 g/kg de peso seco). Alrededor de un 50% corresponde a β -amanitina, un 40% a α -amanitina y el resto a la γ -amanitina¹⁸. La α -amanitina, a diferencia de la β -amanitina, presenta un grupo amino en vez de un hidroxilo en el residuo aspártico.

Se tiene noticia de intoxicaciones ciclopeptídicas desde la antigüedad¹⁹. Posiblemente el primer informe de intoxicación por ingesta de hongos lo escribiera Eurípides (430 a. C.) relatando la muerte de su esposa y 3 hijos²⁰. Se da por seguro la intoxicación y muerte del papa Clemente VII, San Carlos Borromeo, El zar Alejandro Miguel, Carlos IV de Alemania y también se especula que Buda murió por comer un plato de amanitas, pero se duda del rigor histórico de algunos casos famosos, como el asesinato del emperador Claudio²¹. En ciertas circunstancias estacionales favorables las intoxicaciones por hongos pueden presentar características epidémicas, como sucedió en 1918 cerca de Poznan, en Polonia, donde murieron 31 niños al comer un plato preparado en la escuela con *A. phalloides*²².

La incidencia de intoxicaciones por hongos en España se ha estimado en 200-400 casos al año. La mitad aproximadamente presentaría síntomas lo bastante alarmantes como para motivar el ingreso en un departamento de urgencias hospitalarias. De estos ingresos un tercio corresponderían a intoxicaciones ciclopeptídicas propias de las amanitas²³. Históricamente la mortalidad de la intoxicación por hongos era superior al 30%. En la actualidad se estima en alrededor del 7% entre pacientes tratados y un 30% entre los no tratados²⁴. Un informe de 2003 de la Asociación Americana de Centros de Control de Intoxicaciones señalaba a los menores de 6 años como el colectivo más vulnerable, con un 90% de intoxicaciones registradas en jóvenes por debajo de los 19 años^{12,16,25-28}.

En el que quizás sea el primer modelo animal de insuficiencia hepática fulminante se ha utilizado amatoxina

Tabla 2 Amatoxinas más frecuentes y estructura química

	-R				
	1	2	3	4	5
Ácido amanulínico	H	H	OH	OH	OH
Amanina	OH	OH	OH	H	OH
Amaninamida	OH	OH	NH ₂	H	OH
α-Amanitina	OH	OH	NH ₂	OH	OH
β-Amanitina	OH	OH	OH	OH	OH
γ-Amanitina	H	OH	NH ₂	OH	OH
ε-Amanitina	H	OH	OH	OH	OH
Amanulina	H	H	NH ₂	OH	OH
Proamanulina	H	H	NH ₂	OH	H

intraperitoneal para conseguir sintomatología clínica y lesiones patológicas en la biopsia semejantes a las observadas en las necropsias²⁹.

Estructura química y biosíntesis

Las amanitinas son péptidos cíclicos con una masa molecular de unos 900 Da. El primer ciclo está formado por la unión peptídica entre los extremos amino y carboxílico de la molécula, a diferencia de los péptidos cíclicos que habitualmente se forman en los animales mediante puentes disulfuro³⁰. El segundo ciclo interno se forma por la unión del residuo indol de un triptófano a una cisteína. El grupo-NH₂ de la α-amanitina le confiere un carácter reactivo neutro, mientras que el grupo-OH de la β-amanitina le da un carácter ácido²⁶. Se considera que la estructura bicíclica y la presencia del grupo gamma hidroxilo en la dihidroxi isoleucina son determinantes en la toxicidad de las amatoxinas (fig. 1) (tabla 3).

La α-amanitina, codificada por el gen AMA-1, presente solo en especies tóxicas, se sintetiza como proproteína de 35 aminoácidos por una sintasa ribosómica y seguidamente se escinde por una prolil oligopeptidasa (y no por peptidasas de arginina o lisina, como sucede con frecuencia en los animales)³⁰.

El contenido en amatoxina de *A. phalloides* puede variar como consecuencia de las condiciones climáticas y ambientales³¹. Las amanitinas están presentes en todo

el hongo, aunque su distribución no es homogénea. Por ejemplo en *A. phalloides* la α-amanitina se halla en concentraciones crecientes en micelio (hifas), esporas, volva, pedúnculo (pie, estipe), pileo (sombrero) y láminas. Estas diferencias pueden ser relevantes para orientar sobre la cantidad de toxina ingerida^{31,32}, el principal factor de mortalidad en la intoxicación por hongos³³.

Aspectos toxicológicos y clínicos

Toxicodinamia

El mecanismo principal de toxicidad de las amatoxinas es la inhibición de la ARN polimerasa II dependiente de ADN extra nucleolar (RNAP II), deteniendo la síntesis del mRNA, y por lo tanto causando la muerte celular de los hepatocitos. Entre otros mecanismos adicionales está la sinergia con mediadores de apoptosis, como el factor de necrosis tumoral y la participación en la oxidación celular^{11,34-36}. De hecho, la α-amanitina se viene utilizando desde hace tiempo como herramienta de laboratorio para inhibir eficientemente la RNAP II^{35,37-39} sin afectar otras RNAP nucleolares o extranucleolares^{39,40}. Mediante cristalografía de rayos X se ha observado cómo la α-amanitina bloquea la síntesis proteica uniéndose de forma no covalente a la subunidad de 140 kDa de la RNAP II, inhibiendo la elongación esencial para la transcripción. Como consecuencia disminuye la flexibilidad de las cadenas helicoidales de ADN y

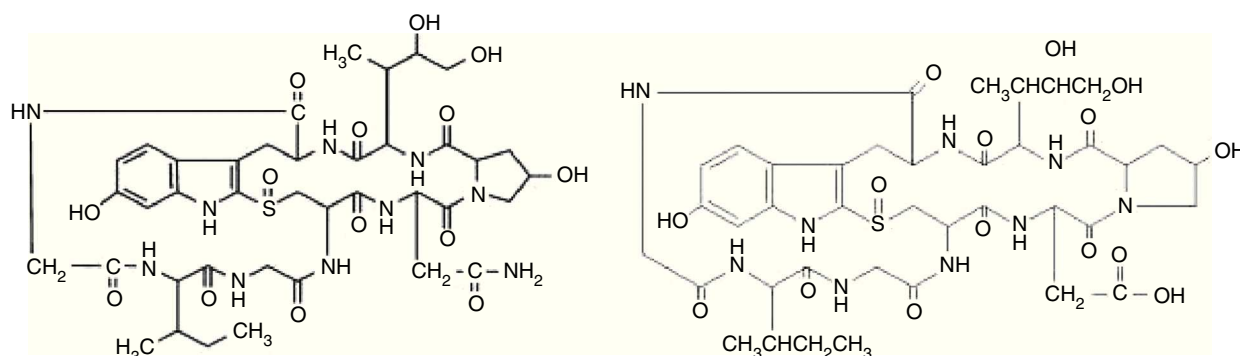


Figura 1 α -amanitina y β -amanitina.

se reduce la velocidad de translocación de la RNAP II a solo varios nucleótidos por minuto. La inhibición no es completa debido a la limitada afinidad de la polimerasa por el nucleósido trifosfato, por lo que aún queda margen para que se puedan formar enlaces fosfodiéster⁴¹. La constante de inhibición del proceso de transcripción de ADN por la RNAP II es de 2×10^{-4} en células eucariotas⁴². Una concentración de 10 $\mu\text{g/l}$ de amanitina inhibe un 60-70% de la actividad RNAP II³³. Como consecuencia se produce una disminución del contenido de mRNA y una marcada inhibición de la síntesis proteica desde la primera hora después de la ingestión que progresa durante las siguientes 24 h, y que se manifiesta como perturbaciones nucleares y citoplasmáticas que acaban con la muerte celular^{10,43,44}. Cronológicamente los principales tejidos afectados son los que integran la mucosa intestinal, hepatocitos y células de los túbulos proximales del riñón^{3,45}. La lesión más grave es la necrosis centrolobulillar hepática, evidenciando cambios celulares que causan su fragmentación y segregación²⁶. Estudios en animales de experimentación muestran también un efecto tóxico directo sobre el riñón⁴⁶⁻⁴⁷. Otros órganos que también acaban afectándose son el páncreas, el adrenal y el testículo⁴⁸.

Se ha documentado la interacción sinérgica entre α -amanitina y citoquinas endógenas como el factor de necrosis celular, que resulta en un aumento del complejo TNF-mARN hepático, e induce la apoptosis de los hepatocitos^{34,45}.

Las amatoxinas también participan en el estrés oxidativo celular aumentando la actividad de enzimas prooxidantes que pueden contribuir a agravar la hepatotoxicidad. La exposición de cultivos de hepatocitos a α -amanitina aumenta la actividad superóxido dismutasa, la peroxidación lipídica

y disminuye la actividad catalasa. Estos cambios suponen un aumento de la generación de peróxido de hidrógeno acompañado de una reducción de la depuración de radicales de oxígeno⁴⁹. La presencia de sustancias como N-acetil-L-cisteína o la silibinina protegen de la peroxidación lipídica más efectivamente que otros antidotos como la bencilpenicilina, carentes de propiedades antioxidantes⁵⁰.

Las amatoxinas no atraviesan la barrera placentaria, por lo que no es de esperar que se produzcan lesiones fetales⁵¹⁻⁵³. Sin embargo, se han descrito efectos teratogénos en exposiciones producidas durante el primer trimestre del embarazo^{54,55}.

La LD₅₀ de las amatoxinas en ratones es 0,3-0,7 mg/kg frente a 1,5-3 mg/kg de la falotoxina^{10,56,57} y de 2,5 mg/kg de las virotoxinas⁵⁸. La LD₅₀ de la α -amanitina es 0,1-0,3 mg/kg y de la β -amanitina de 0,5 mg/kg^{33,59}.

El mecanismo de acción de algunos antidotos de la intoxicación por α -amanitina, como penicilina o silibinina, se basa en la disminución de la captación hepatocelular de esta sustancia^{60,61}. Desde su primer paso por el hígado la α -amanitina es captada por el hepatocito a través de transportadores de ácidos biliares dependientes de sodio (proteína transportadora de Na⁺/taurocolato)^{61,62} y de polipéptidos solubles transportadores de aniones orgánicos (OATP) (relacionadas con el transporte de hormonas tiroideas, prostaglandinas, esteroides...) independientes de sodio⁶³⁻⁶⁵. De las 3 proteínas OATP localizadas en la membrana basolateral del hepatocito, se ha demostrado que la denominada OATP1B3 (antigua OATP8)⁶⁶⁻⁶⁹ es el transportador humano preferente de amatoxinas⁷⁰. Esto explicaría que inhibidores competitivos de la OATP1B3, como la rifampicina, pudieran desempeñar un papel terapéutico^{70,71}.

Tabla 3 Características químicas de la α -amainitina y β -amanitina

	Masa molecular relativa	Fórmula química	Denominación IUPAC	Código CAS
α -amanitina	918,97	C ₃₉ H ₅₄ N ₁₀ O ₁₄ S	(ciclo(L)-asparaginil-4-hidroxi-L-proli-(R)-4,5-dihidroxi-L-isoleucil-6-hidroxi-2-mercapto-L-triptofilglicil-lisoleucilglicil-L-cisteinil) ciclo(4 $\rightarrow$ 8)-sulfuro(R)-S-óxido	23109-05-9
β -amanitina	919,95	C ₃₉ H ₅₃ N ₉ O ₁₅ S	1-L-ácido aspártico alfa-amanitina	103085710

Fuente: Frimmer⁸.

Tabla 4 Detección de las amanitinas en suero y orina tras la ingesta

Detectable	En suero	En orina
Horas después de la ingesta	30	6-96
α	23,5-162 $\mu\text{g/l}$	> 3,2 $\mu\text{g/h}$
β	8-190 $\mu\text{g/l}$	> 80 $\mu\text{g/h}$

Toxicocinética

En el ser humano las amatoxinas se absorben rápidamente y se detectan en orina a los 90-120 min de la ingesta⁷². En algunos animales (por ejemplo ratas y ratones) la absorción es lenta e incompleta, mientras que en otros (como cobayas, perros o gatos) es rápida y completa y como consecuencia extremadamente mortal.

El volumen de distribución de la α y γ amanitina son similares al volumen del espacio extracelular. La distribución en otros compartimentos es relativamente rápida con un tiempo de semivida en plasma de 27-50 min. Las amatoxinas no se unen significativamente a proteínas plasmáticas, sino que circulan libremente en el plasma⁷³.

No se han observado metabolitos intermedios de estas toxinas^{74,75}.

Un 80% de la cantidad ingerida es eliminada por la orina, la vía más importante de excreción, en un periodo de 6 h, pero que puede prolongarse hasta 2-3 días. El modesto 7-10% excretado por vía biliar⁷⁴ es sin embargo relevante por el hecho de que la circulación enterohepática mantiene las concentraciones plasmáticas de sustancia tóxica durante más tiempo⁷⁶. En fases precoces de la intoxicación las concentraciones de amanitina en orina son 10-100 veces superiores a la concentración en plasma, donde apenas se detectan a las 36-48 h de la ingesta debido a su mayor capacidad de fijación por el tejido renal. Posteriormente pueden ser detectadas en plasma como consecuencia del daño renal producido por la intoxicación^{16,77}.

El aclaramiento renal es similar al de la creatinina^{74,77}.

La presencia de amatoxinas en líquidos biológicos se produce en función del tiempo. Se han hallado elevadas concentraciones de amatoxinas en contenido gastroduodenal entre 12 y 72 h después de la ingestión⁷⁶, o incluso transcurrido más tiempo⁷⁷. La circulación enterohepática de la toxina prolonga su presencia en el organismo⁷⁸ y durante algunos días se pueden localizar cantidades importantes en el tejido hepático y en las heces⁷⁷ (tabla 4).

Clínica

Todos los pacientes que presenten indicios de intoxicación por hongos que contienen amatoxinas debieran ser ingresados en una unidad de cuidados intensivos. Tras la exposición se inicia un periodo asintomático o de latencia media de 11 h (entre 6 y 24 h) y que en algunos casos puede alcanzar las 36 h, por lo que se califica de intoxicación de presentación sintomática tardía⁴⁵. Este periodo de latencia es inversamente proporcional al consumo de toxina, es decir, largos periodos de latencia (más de 15 h) corresponden a casos leves⁷⁹.

La evolución clínica de la intoxicación se desarrolla en 3 etapas consecutivas:

1. Fase gastrointestinal que se inicia a las 24 a 48 h de la ingestión y que tiene una duración de 12 a 36 h. Comienza súbitamente con un cuadro parecido al cólera: náuseas, dolor abdominal, vómitos y diarrea profusa, a veces muco-sanguinolenta, que si no es correctamente tratado puede conducir a deshidratación, alteraciones hidroelectrolíticas, shock hipovolémico, oliguria y terminar en daño renal⁴⁵. En esta fase también puede manifestarse hipoglucemia, hipopotasemia y acidosis metabólica que pueden ser mortales^{26,33,80}.
2. Fase de mejoría aparente de 12 a 24 h de duración, pero que según sea la magnitud de la exposición puede prolongarse hasta las 48 h. El paciente se encuentra clínicamente asintomático, aunque se detecta aumento de actividad enzimática (ALT antes que AST) y bilirrubina, descenso de protrombina y factor V, así como aumentos de creatinina y urea en plasma indicando un deterioro funcional hepático y renal²⁶⁻²⁷.
3. Fase hepatorenal que comienza a las 48 a 96 h después de la ingesta o antes si la ingesta fue abundante. Aparecen signos de lesión celular: aumento de bilirrubina, LDH y aminotransferasas que a concentraciones catalíticas altas son indicativas de mal pronóstico^{81,82}. Hay alteración de las pruebas de coagulación, hipoglucemia⁸³ y acidosis metabólica. El cuadro clínico evoluciona a insuficiencia hepática por necrosis (que se describe como necrosis centrolobulillar y degeneración grasa del hígado²⁶) con hiperamoniemia, acidosis hipoglucémica y encefalopatía. Las altas concentraciones de creatinina señalan un daño renal adicional, directo o secundario al shock vascular hipovolémico, con deshidratación de las células tubulares renales que se manifiesta por oliguria grave o anuria. Raramente se produce pancreatitis. Sin el tratamiento oportuno sobreviene un fallo orgánico masivo acompañado de coagulación intravascular diseminada. La muerte por daño hepatorenal puede producirse al cabo de 6 a 16 días de la ingesta. En algunos casos se observa una evolución a hepatitis crónica por inmuno-complejos.

Además de este proceso patológico hepatorenal, puede presentarse afectación del sistema nervioso central, hemorragias gastrointestinales e incluso metahemoglobinemia, infarto de miocardio y megacolon residual^{33,84} (tabla 5).

Las amatoxinas pueden provocar la muerte de un adulto con tan solo una dosis de 0,1 mg/kg de peso corporal⁸⁵. Es decir, la ingestión de una *A. phalloides* madura de 20 a 25 g implicaría la exposición a 5-8 mg de amatoxina, letal para un adulto de 70 kg. Los niños se consideran un grupo especialmente sensible a estas intoxicaciones, presentando la mortalidad más alta (tabla 6).

Diagnóstico

El diagnóstico de la intoxicación por amanitina se basa en la historia y la cuidadosa valoración de las manifestaciones clínicas, y se confirma con los exámenes de laboratorio.

Tabla 5 Efectos de la intoxicación por amanitinas

Fase gastro-intestinal	Náuseas
	Dolor abdominal
	Diarrea
	Deshidratación
	Oliguria
Fase de mejoría aparente	Alteraciones electrolíticas
	Asintomático
Fase hepato-renal	Empiezan a elevarse las aminotransferasas
	Aumento de las aminotransferasas
	Aumento de la LDH
	Aumento de la bilirrubina
	Alteración pruebas de coagulación
	Hipoglucemia
	Acidosis metabólica
	Daño renal
	Encefalopatía hepática
	Coagulación intravascular diseminada
	Ocasionalmente: afectación del SNC, metahemoglobinemia, infarto de miocardio, megacolon residual

Tabla 6 Comparación de la DL₅₀ de diferentes amatoxinas

		DL ₅₀ (mg/kg)
Ácido amanulínico		> 20
Amanina		0,5
Amaninamida		0,5
α-Amanitina	Cobaya	0,05
	Perro	0,15
	Rata	2,0
	Ratón	0,2
β-Amanitina		0,5
γ-Amanitina		0,2
ε-Amanitina		0,3
Amanulina		> 20
Proamanulina		> 20

Fuente: Wieland²²¹ y Staack y Maurer²²².

Debe efectuarse en fases iniciales con el objetivo de instaurar medidas terapéuticas orientadas a eliminar el tóxico y proteger el tejido hepático^{3,16,44,86-88}.

Identificación del hongo causante de la intoxicación

El primer paso es la caracterización del espécimen ingerido. **Morfología.** Es conveniente que el paciente proporcione la muestra o restos de los hongos consumidos para que sean identificados por un experto^{79,89}. El estudio micológico puede verse dificultado por la mala conservación de los especímenes (la cocción o el almacenamiento prolongado pueden alterar el aspecto y dificultar la identificación de

**Figura 2** *Amanita phalloides* y sus esporas⁸⁹.**Figura 3** *Lepiota bruneoincarnata* y sus esporas⁸⁹.

las esporas^{83,90,91}), además de ser un procedimiento lento⁹² y que depende de la disponibilidad de personal experto (figs. 2 y 3).

Prueba colorimétrica rápida de Wieland-Meixner. Esta prueba fue descrita originalmente por Wieland⁹³ como una forma práctica de saber si unos restos orgánicos contienen amanitina. Consiste en depositar una pequeña cantidad del espécimen a estudiar (jugo de los hongos) sobre un papel rico en lignina (por ejemplo, papel de periódico pero no el papel de filtro habitual en el laboratorio) según la aportación de Meixner⁹⁴, añadir HCl concentrado y, manteniéndolo al abrigo de la luz solar, calentar ligeramente sin sobrepasar los 30 °C, por ejemplo con un secador de aire. El papel adquiere un color azul en 1 a 3 min si la muestra contiene más de 2 µg de amanitina^{79,89,95}. No obstante, es un procedimiento inespecífico que presenta falsos positivos y negativos (19%) y no es capaz de resolver las diferentes amatoxinas⁹⁶⁻⁹⁸.

Cromatografía. La cromatografía en capa fina es un método rápido y asequible a muchos laboratorios, pero que presenta una baja resolución, poca sensibilidad y en el que la identificación descansa sobre la inespecificidad de reactivos y la comparación de la movilidad relativa con patrones.

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), cuando se acopla a detectores de alta sensibilidad (espectrometría de masas en tándem, MS/MS) ofrece los mejores resultados, aunque con la dificultad añadida de la extracción de toxinas de diferente polaridad.

Por último, cabe mencionar la posibilidad de utilizar electroforesis capilar y en zona para separar las toxinas, y así poder identificar el hongo responsable de la intoxicación⁹⁹.

Técnicas de biología molecular. A finales de la década de 1980¹⁰⁰ se abrió una posible alternativa a estos procedimientos a través de la metodología basada en el estudio de polimorfismos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la amplificación aleatoria de ADN polimórfico, la restricción fragmentos de longitud (PCR/RFLP) y la longitud de fragmentos amplificados

(PCR/AFLP)^{79,89}. La identificación taxonómica de los hongos se confirma secuenciando regiones espaciadoras transcritas internas, regiones no codificantes de ADN ribosómico que separan componentes individuales. Se trata de regiones mucho más polimórficas que las propias regiones génicas, y por tanto constituyen marcadores genéticos útiles¹⁰¹. La primera detección específica utilizando PCR convencional para identificar *A. phalloides* a través de la amplificación de un fragmento del gen de la gliceraldehído 3 fosfato deshidrogenasa se describió en 2000¹⁰². Se trata de un procedimiento lento y poco sensible, quizás porque este gen no sea el más adecuado^{103,104}. Originalmente era un procedimiento que no se validó para esporas ni se extendió a muestras biológicas. Unos años después se propuso la PCR en tiempo real para identificar 4 especies de hongos tóxicas habituales en Japón¹⁰⁵ y para *A. phalloides*¹⁰⁶. Existen también propuestas de *macroarrays* para ADN ribosómico de *Amanita*¹⁰⁷ o PCR directa para restos de hongos crudos, cocinados o digeridos en parte o en su totalidad, con finalidades esencialmente forenses y que solo requieren 0,04 pg de material genético¹⁰³.

Exámenes de laboratorio

En la fase de afectación gastrointestinal las determinaciones de laboratorio se orientan al diagnóstico y seguimiento de la deshidratación y trastornos electrolíticos. En las siguientes fases se monitorizan los exámenes de laboratorio indicativos de daño y regeneración de los tejidos hepático y renal: enzimas de origen hepático y pancreático, bilirrubina, amonio, urinálisis, factores de coagulación, fibrinógeno y recuento de células periféricas²⁵.

Determinación específica de amatoxinas en líquidos biológicos

La determinación de amatoxinas en líquidos biológicos viene realizándose desde hace décadas, aunque no se han publicado estudios exhaustivos de validación, por lo que solamente cabe asignarle una utilidad relativa de confirmación del diagnóstico establecido mediante la historia y la sintomatología clínicas. La exactitud diagnóstica mejora cuando se combina la alta sensibilidad y el valor predictivo del resultado negativo de las manifestaciones clínicas con la alta especificidad y valor predictivo del resultado positivo en la determinación de amatoxina en orina, siempre que esta se recogiera antes de que hayan transcurrido 36 h de la exposición¹⁰⁸. Es posible que una considerable cantidad de amatoxinas ya no esté presente en plasma si el paciente llega al hospital cuando ya han transcurrido más de 12 h después de la ingestión y se han empezado a manifestar los primeros síntomas^{77,90,109}. El periodo de detección de micotoxinas en plasma es de aproximadamente 36 h^{77,108,110}. En orina, el espécimen de elección^{99,110}, la detectabilidad empieza a los 90 min y puede prolongarse hasta 4 días después de la ingestión^{33,77,111}.

De acuerdo con la excreción de amanitinas en orina se pueden establecer los siguientes estadios^{79,112}:

1. Concentraciones en orina inferiores a 3 µg/l en las primeras 24-48 h después de la ingesta indican intoxicación leve o nula.
2. Concentraciones en orina entre 3 y 25 µg/l en las primeras 24 h o entre 3 y 15 µg/l en las 24-48 h después de la ingesta pueden evolucionar como intoxicaciones leves o graves.
3. Concentraciones en orina superiores a 25 µg/l en las primeras 24 h o de 15 µg/l de las 24-48 h después de la ingesta son potencialmente mortales, especialmente si superan los 100 µg/l.

Sin embargo, el resultado de la determinación de amatoxina en orina no se corresponde estrictamente con la gravedad de la lesión hepática, por lo que su valor pronóstico es discutible⁹⁸. Posiblemente las variaciones en la dilución de la orina (en especial si previamente se ha administrado líquidos o forzado la diuresis) impiden una estrecha correspondencia con la clínica.

Los resultados publicados de la determinación tanto en plasma como en orina muestran una considerable variabilidad atribuible a factores como cantidad, especie y partes de hongos ingeridos, área geográfica de crecimiento, además, lógicamente, del método analítico utilizado. Por ejemplo, en casos mortales se han descrito resultados desde 1 µg/l⁵⁹ a 8-150 µg/l⁷⁷.

Los procedimientos analíticos utilizados para la determinación de amanitinas en líquidos biológicos han sido:

Radioinmunoanálisis. Los primeros intentos para conseguir anticuerpos frente las toxinas de *A. phalloides* utilizando extractos crudos se remonta a finales del siglo XIX¹¹³, aunque sin éxito por la escasa antigenicidad de los péptidos. Posteriormente se intentó mejorar los resultados utilizando complejos de albúmina bovina que tampoco resultaron demasiado antigénicos, pero que se manifestaron mucho más tóxicos que las propias amatoxinas. Finalmente se logró un complejo albúmina-péptido-polilisina, menos tóxico y más antigénico que permitió desarrollar un primer radioinmunoanálisis (RIA) funcional con ³H como trazador^{114,115}. Más tarde se utilizó como trazador el ¹²⁵I desarrollando inmunoanálisis hasta 6 veces más sensibles y que requerían la mitad de tiempo de realización que los basados en ³H¹¹⁶. Durante muchos años el RIA fue considerado el método de referencia⁹⁹; sin embargo, a los inconvenientes tradicionales de los inmunoanálisis isotópicos se sumó la poca estabilidad del trazador, que implicaba una caducidad prematura y una baja sensibilidad de los anticuerpos a la amanitina¹¹⁷.

Inmunoanálisis enzimático. Existe un inmunoanálisis comercializado (Amanitin ELISA, Bühlmann Laboratories AG CH-4124 Schönenbuch/Basel, Suiza) que permite cuantificar amatoxina en orina^{79,89,112}. No requiere los complejos procesos de extracción de la cromatografía ni las medidas de seguridad que lleva aparejado el RIA¹¹⁰. Actualmente es el método que muchos laboratorios clínicos han adoptado para confirmar o descartar intoxicaciones por hongos que contengan amatoxinas. El desarrollo analítico completo (incluyendo una calibración entre 0 y 100 µg/l) es aproximadamente de una hora, por lo que puede utilizarse en el contexto de un laboratorio de urgencias. Se interpreta en función de un valor discriminante de 3 µg/l propuesto por el fabricante. Valores superiores a 5 µg/l se concluyen como claramente positivos¹¹⁸. Tiene una especificidad del 100% para α-amanitina, 90% para δ-amanitina, y 0% para δ-amanitina y falotoxinas. Puede utilizarse

preferentemente con especímenes de orina, pero también de suero o plasma.

Cromatografía. La cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas ha sido considerada durante muchos años como la técnica de referencia en toxicología, pero no es posible aplicarla a la resolución de péptidos no volátiles como las amatoxinas¹¹⁹. No obstante, la HPLC es precisa, sensible y específica, pero también costosa y lenta⁸⁹. Muchos de los procedimientos descritos para preparar la muestra utilizan sistemas de extracción en fase sólida, tanto de intercambio catiónico (por ejemplo benceno sulfonil propilsilano), con cadenas hidrofóbicas (C8, C18) como con combinaciones de ambas fases estacionarias, por lo que exhiben una notable capacidad de retener todo tipo de fármacos: ácidos, básicos, neutros o anfóteros¹²⁰. Por lo que respecta a la identificación se han utilizado detectores electroquímicos, de radiación UV: fotomultiplicadores o de matrices de diodos, y espectrómetros de masas y en tándem. No obstante, los métodos de detección más simples y asequibles no permiten la identificación simultánea de amatoxina y falotoxinas por requerir diferente longitud de onda para su identificación. En la [figura 4](#) se presenta un ejemplo de cromatograma realizado en un extracto de *A. phalloides*.

Como ya se ha mencionado, las concentraciones observadas en líquidos biológicos en caso de intoxicaciones son muy variables. Típicamente están entre 2 y 10 µg/l por HPLC^{9,121,122} o entre 0,26 y 2,5 µg/l por MS MS^{75,109}.

Electroforesis capilar en zona. Se trata de un procedimiento analítico rápido y sencillo con un límite de detección entre 1,5 y 1000 µg/l, en algunos casos demasiado alto para las necesidades clínicas^{99,123,124}. Ocasionalmente se ha señalado problemas de reproducibilidad¹²⁰.

Tratamiento

Se hace difícil evaluar la eficacia clínica de todos los tratamientos sugeridos debido a que hasta hace relativamente poco tiempo se desconocían los mecanismos moleculares de la intoxicación¹²⁵. Además, la literatura médica es escasa y muchas veces de carácter meramente anecdótico³. Aparentemente no existe antídoto disponible ni estrategia estándar. De cualquier modo, la supervivencia está condicionada por la precocidad del diagnóstico, de la hospitalización y de la implantación inmediata de medidas terapéuticas¹²⁶. En un estudio de 1999 ya se concluía que los pacientes tardaban una media de 32 h en recibir tratamiento, muchas veces cuando el daño hepático era ya irreversible y, por tanto, la supervivencia baja⁸⁷.

Debe diferenciarse entre medidas de soporte y medidas terapéuticas.

1. Cuidados médicos preliminares: descontaminación gastrointestinal. Teniendo en cuenta el período de latencia, la eficacia de los procedimientos habituales (inducción del vómito, lavado gástrico, etc.) es dudosa y solamente debe considerarse si la ingestión ha sido reciente.
2. Medidas de soporte de implantación obligada al inicio del cuadro clínico:
 - Mantenimiento de vías aéreas y estabilización hemodinámica.
 - Establecimiento de un plan de hidratación parenteral para mantener el ritmo diurético de 3 ml/kg/hora. La reposición de líquidos es importante en la fase gastrointestinal para evitar la deshidratación, debido a que la amatoxina se elimina por la orina en las primeras 24 h.
3. Medidas específicas de detoxificación consistentes en disminuir la absorción, estimular la eliminación y administrar fármacos con el fin de proteger el hígado de la exposición tóxica:
 - Para limitar la absorción se ha propuesto la administración cada 4 h de 1 g/kg de peso de carbón activado y sorbitol al 70% siempre que no presente diarrea, aunque existe poca evidencia de su eficacia. Puede combinarse con la aspiración gastroduodenal mediante una sonda de aspiración continua nasoduodenal con el fin de reducir la reabsorción del tóxico por recirculación enterohepática^{78,127,128}.
 - Respecto a la eliminación urinaria no se recomienda forzar la diuresis y se considera suficiente un flujo urinario de 0,1-0,2 l/h para eliminar las toxinas.
 - Los primeros procedimientos de depuración extrarrenal de amatoxinas fueron la hemoperfusión con carbón y la hemodiálisis, aunque con éxito desigual debido a que las amatoxinas poseen una alta afinidad por superficies de polímeros de carbono^{86,129-132}. Estos procedimientos solamente serán efectivos si se inician durante las primeras 24-36 h después de la ingesta debido al rápido aclaramiento plasmático de la amatoxina^{74,129,133,134}. Además de precoz, se recomienda que la hemodiálisis sea prolongada porque el lactato se produce más rápidamente que se depura^{3,135}. La plasmaféresis¹³⁶ y la diálisis peritoneal¹³⁷ también tienen una utilidad limitada¹³⁸. Recientemente se ha propuesto el sistema de reciclado absorbente molecular (MARS)^{139,140} que incluye un circuito intermedio con 10-20% de albúmina en un sistema estándar de hemodiálisis o hemofiltración y una membrana de alta selectividad. Es un sistema útil para depurar sustancias hidrosolubles o unidas a proteína^{139,141}. Se ha utilizado con éxito en pacientes con insuficiencia hepática aguda grave^{131,142-145}, por lo que sería un procedimiento alternativo al trasplante hepático ortotópico¹⁴⁵ o como un tratamiento puente hasta poder realizar dicho trasplante¹⁴⁶.
 - Algunos fármacos han demostrado, de forma más o menos contrastada, su eficacia como antídotos en algún estudio experimental, pero pocos han llegado de forma protocolizada a la práctica clínica. En general su actuación se basa en el bloqueo farmacológico de la entrada de toxinas en el interior de la célula hepática más que en mecanismos intracelulares¹⁴⁷:
 - Ácido tióctico (ácido α-lipoico) (300-600 mg/kg/d i.v. en 4 dosis) introducido en 1959, funciona como una de las coenzimas de la descarboxilación oxidativa del piruvato y otros ceto-ácidos del ciclo de Krebs^{25,61,148-150}.
 - Dexametasona (8-16 mg/d i.v.), pero con resultados controvertidos⁶¹.
 - Etanol, según un único estudio, parece ser que reduce la absorción de toxinas si se consume en el momento de la exposición¹⁵¹.

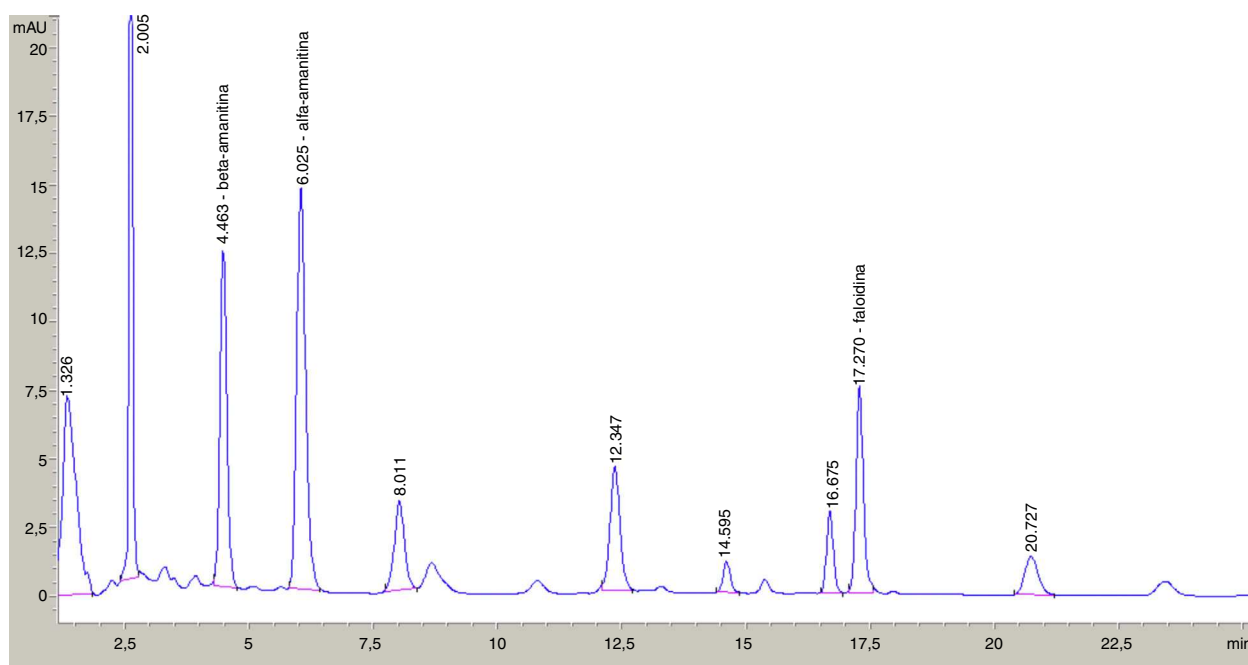


Figura 4 Cromatograma obtenido a partir de una muestra homogenizada de tejido de *Amanita phalloides* en una mezcla de metanol/agua/HCl 0,01 M (5:4:1). Inyección de 0,200 ml en un equipo HPLC con detección por *diode array* (Agilent 1200). Columna C18; fase móvil: acetato amónico 0,05 M/acetonitrilo (90:10), pH: 5,5. Flujo 1 ml/min. Destaca la elevada concentración de beta amanitina, alfa amanitina y faloidina (cedido por Jordi To-Figueras. Laboratorio de Toxicología, Hospital Clínic de Barcelona; noviembre de 2014).

- Cimetidina, potente inhibidor del citocromo P450, se mostró eficaz en proteger de cambios mitocondriales en ratones de forma profiláctica y 6 h después de la exposición a α -amanitina¹⁵². Sin embargo, no se mostró activa frente a la faloidina¹⁵³.
- Glucósidos iridoides heterósidos utilizados en medicina tradicional china, como catalpol, swertimarina, gardenosido y especialmente aucubina han mostrado un efecto protector hepático en modelos de intoxicación por *A. virosa* en perros¹⁵⁴, y combinadas con kutkina, un glucósido aislado de la raíz de *Picrorhiza kurroa*, frente a *A. phalloides* en ratón¹⁵⁵.
- Penicilina (1.000.000 UI i.v. el primer día y 500.000 los 2 días siguientes), fármaco bien conocido y seguro, pero susceptible de producir alergias^{27,33}, actuaría a través de un mecanismo de acción no del todo bien conocido. A altas dosis parece ser que bloquea la ADN polimerasa alfa, la proliferación de células eucariotas, la disminución de producción de gamma-amino butírico¹⁵⁶ además de bloquear la captación de amatoxina compitiendo por los sitios de unión de las proteínas^{61,157}, aunque la eficacia es discutible³. Se ha administrado sola o en combinación con otros fármacos como el ácido tióctico o con silibinina¹⁵⁸. La ceftazidina, miembro de la tercera generación de cefalosporinas, parece ser más potente que los beta-lactámicos y tener menos efectos secundarios¹⁵⁹.
- N-acetil cisteína (NAC) (150 mg/kg i.v. en la primera hora y 50 mg/kg cada 4 h¹⁶⁰⁻¹⁶²) es un fármaco que actúa sobre el ciclo del glutatión y que es utilizado en la intoxicación por acetaminofén. Se ha propuesto para el tratamiento de la intoxicación por amatoxinas cuando se detecta insuficiencia hepatocelular debido a su actividad antioxidante inespecífica¹⁶²⁻¹⁶⁵. La captación de radicales libres, la repleción de glutatión y la alteración de puentes intramoleculares de la amatoxina serían las claves de su efectividad¹⁶⁶. Por tanto, tendría actividad toxicodinámica (antioxidante, antiinflamatoria y antifibrótica) y toxicocinética (inhibición de la captación por los hepatocitos y de la circulación enterohepática). Sin embargo, hay que tener en cuenta la posibilidad de que interfiera en las pruebas de coagulación¹⁶⁷⁻¹⁷⁰.
- Silibinina, el flavonoide polifenólico más abundante de la planta comestible mediterránea *Silybum marianum* (cardo mariano) (5 mg/kg i.v. en una hora; y 20 a 50 mg/kg/día en perfusión i.v. continua, hasta normalizar los factores de coagulación¹⁷¹⁻¹⁷²). Actúa: a) contrarrestando la peroxidación lipídica capturando radicales libres y aumentando la presencia de la forma reducida del glutatión¹⁷³⁻¹⁷⁴; b) estabilizando la membrana de los hepatocitos no afectados¹⁷⁵ y modulando los transportadores de fármacos, por ejemplo a través de la inhibición de la glucoproteína P, responsable de la eliminación de diversos fármacos lipofílicos, potenciando

su acción¹⁷⁶; c) regulando la expresión de factores nucleares como el NF- κ B que participan en la regulación de la inflamación y la apoptosis, contribuyendo a la producción de IL-1, IL-6, α -TNF, linfotóxina, GM-CSF, interferón γ , etc.¹⁷⁷⁻¹⁷⁸; d) inhibiendo la transformación de hepatocitos estrellados en miofibroblastos, mecanismo de depósito de colágeno que conduce a la cirrosis¹⁷⁹⁻¹⁸⁰; e) modulación de los receptores nucleares de hormonas esteroideas estrogénicas^{181,182}; y f) actividad antiangiogénica asociada a restricción del receptor 3 del factor de crecimiento vascular endotelial¹⁸³. Aunque la evidencia es aún limitada¹⁷⁷ o controvertida^{184,185}, parece ser que es eficaz sola o asociada a penicilina en la protección y tratamiento de la intoxicación por amanitinas, siempre que se administre precozmente, antes de que transcurran 24 h de la ingestión¹⁸⁰.

- Amifostina, un tiofosfato orgánico profármaco del WR-1065 (tiol libre), es un agente desarrollado en ámbitos militares para la protección celular frente a la radiación terapéutica y de una serie de agentes quimioterapéuticos (como cis- y carboplatino, fluorouracilo, etc.). Actuaría como depurador de radicales libres y protegería de la lipoperoxidación, el entrecruzamiento del ADN, aumentaría el glutatión intracelular y cooperaría en la reparación del ADN dañado¹⁸⁶⁻¹⁸⁸. A dosis de 0,25-0,50 g/kg ha mejorado moderadamente la supervivencia de ratones expuestos (20%) frente a la de controles (10%). A dosis más altas (1,6 g/kg) probablemente su propia toxicidad se combinó con la de la amanitina¹⁸⁹ porque el resultado fue una supervivencia menor que la del control¹⁹⁰.

En la actualidad, para algunos hospitales de referencia los fármacos de elección son la silibinina y la penicilina. No obstante, a pesar de la incertidumbre que generan los diferentes modelos experimentales, parece ser que silibinina y NAC, solos o asociados, son los fármacos más prometedores ya que logran reducir la tasa de mortalidad de un 10,66% a un 5,6% y un 6,8% respectivamente^{3,180}. Sin embargo, en un estudio con ratones en que se comparó la efectividad del tratamiento con NAC, silibinina, ácido tióctico, cimetidina y penicilina frente a controles, se concluyó que ninguno de ellos era capaz de reducir significativamente el incremento de la actividad aminotransferasa ni disminuir la necrosis hepática¹⁸⁵. A pesar de ello, en otro estudio relativamente reciente se consiguió la supervivencia de todos los pacientes tratados antes de que transcurriera 36 h de la exposición mediante la corrección de trastornos hidroeletrolíticos y de coagulación, manteniendo una diuresis moderadamente incrementada (0,2 l/h, al menos 2 días) y administrando a las dosis expuestas anteriormente: carbón activado (3 días), dexametasona, glutatión (2,4 g/12 h) y penicilina¹²⁶.

4. Trasplante hepático: en 1985 se realizó el primer trasplante hepático a una niña de 3 años por insuficiencia hepática consecuencia de intoxicación por amatoxinas¹⁹¹. De las 2 técnicas de trasplante hepático, ortotópico y parcial auxiliar, se ha propuesto este último como medida provisional hasta recuperar la funcionalidad de la parte original respetada¹⁹². La cuestión principal es establecer

el momento más oportuno para poder realizarlo con éxito. Si el trasplante se efectúa demasiado pronto se expone al paciente al riesgo quirúrgico y se compromete su calidad de vida cuando hubiese podido sobrevivir con un tratamiento menos agresivo, pero si la decisión se pospone demasiado puede morir, por ejemplo, por no hallarse a tiempo un donante^{193,194}. Por tanto, es importante que entre las 36-48 h se tome una decisión sobre la realización de trasplante¹⁴⁷. El intervalo más exigente para realizar el trasplante es de 24-48 h después de observarse los criterios de selección¹⁹⁵; el intervalo menos exigente es el del *King's College* para intoxicación diferente de paracetamol: 60 h¹⁹⁶. Criterios intermedios, 48 h, son los de Ganzert¹⁹⁷ o el del *King's College* para intoxicación por paracetamol¹⁹⁸.

La etiología es el factor decisivo en el resultado del trasplante^{196,199,200}, pero en muchas ocasiones el diagnóstico de la intoxicación por amatoxinas es incierto^{192,201} y es preciso adoptar criterios de indicación quirúrgica establecidos para otras etiologías, como la intoxicación por paracetamol¹⁹⁶. No obstante, la literatura recoge diversos criterios para establecer la indicación del trasplante en la intoxicación por amatoxinas:

- Criterios del Hospital del *King's College* (1989)¹⁹⁶: a) INR por encima de 7; o b) por lo menos 3 de los siguientes signos: INR por encima de 3,5, bilirrubina en suero por encima de 300 μ mol/l, edad inferior a 10 años o por encima de 40 años, intervalo entre ictericia y encefalopatía de más de 7 días y toxicidad farmacológica. No serían indicativas la elevación de la concentración de bilirrubina y amonio, que sí lo son en la insuficiencia hepática fulminante de origen viral o por intoxicación por acetaminofén^{198,202-205}.
- Criterios de Klein y Pinson (1990)^{127,128}: tiempo de protrombina médicamente poco tratable y prolongado (> 50%) junto a acidosis metabólica, hipoglucemia, hipofibrinogenemia, aumento del amonio sérico seguido de una marcada elevación de las concentraciones de aminotransferasas.
- Criterios de Hôpital Beaujon-Clichy (1993)²⁰⁶: a) Disminución del factor V por debajo del 30% del límite de referencia en pacientes de más de 30 años, o por debajo del 20% en pacientes de menos de 30 años; y b) encefalopatía de grado 3-4.
- Criterios de Beckurts, 1997²⁰⁷: a) tiempo de protrombina inferior al 20% de la referencia en curso de varios días; b) concentración sérica de creatinina superior a 124 μ mol/l incluso después de corregir anomalías hidroeletrolíticas; c) concentración sérica de bilirrubina > 79 μ mol/l y encefalopatía progresiva que indicaría un curso letal.
- Criterios de Ganzert (2005)¹⁹⁷: presentar en cualquier momento entre el tercer y el décimo día después de la ingestión: a) índice de protrombina igual o inferior al 25% de la referencia; y b) concentración sérica de creatinina igual o superior a 106 μ mol/l, prescindiendo de la presencia o no de encefalopatía y de otros factores como género (más frecuente en mujeres) y edad (menor supervivencia en niños). La posible sensibilidad a interferencias en la determinación de creatinina y la posible inconsistencia del índice de protrombina han sido objeto de discusión²⁰⁸.

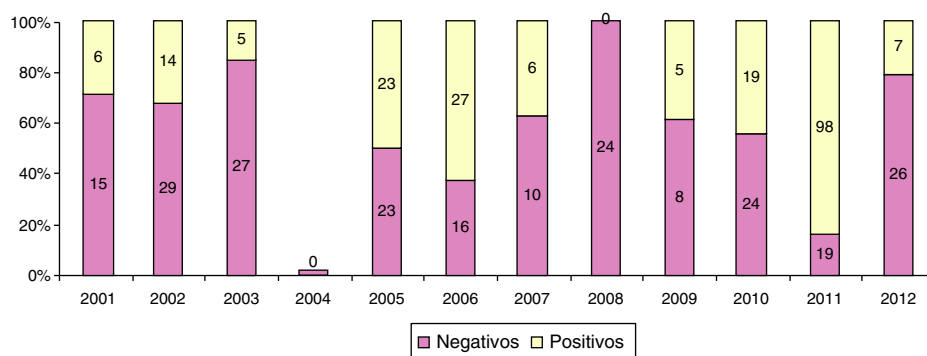


Figura 5 Incidencia de intoxicaciones ciclopeptídicas en el Hospital Clínic de Barcelona. Resultados analíticos de amatoxina en orina obtenidos en el laboratorio de toxicología entre los años 2001-2012.

Escudé²⁰⁹ juzga superior el criterio del Hospital del *King's College*, y sugiere valorar un INR superior a 6 a los 4 días o más de la ingestión. La encefalopatía tampoco sería un criterio de indicación de trasplante urgente.

El trasplante hepático por insuficiencia aguda plantea contraindicaciones absolutas y relativas:

(a) Contraindicaciones absolutas:

- Enfermedad cardiopulmonar incorregible que constituye un riesgo prohibitivo para la cirugía.
- Enfermedad maligna no hepática de menos de 5 años de evolución (exceptuando cáncer dermatológico superficial) o que no cumple criterios oncológicos de curación.
- Adicción al consumo de alcohol o drogas, requiriéndose ocasionalmente 6 meses de abstinencia o afiliación a programas de rehabilitación y abstinencia.

(b) Contraindicaciones relativas (que deben ser consideradas individualmente):

- Edad avanzada (más de 65 años).
- Infección por el VIH.

El embarazo no es una contraindicación para el trasplante²¹⁰.

En la actualidad la expectativa de supervivencia del paciente tratado correctamente es del 90%, excluyendo el resto al que se le practica el trasplante hepático (fig. 5).

Mortalidad y epidemiología

Mortalidad

Al inicio de la década de 1950 la mortalidad era del 20-30%. Con la introducción de medidas de tratamiento más eficaces ha descendido progresivamente a un 7%^{127,160}. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la mortalidad en niños menores de 10 años es de alrededor del 50%²⁶⁻²⁷, probablemente porque ingieren mayor cantidad de toxina por kg de peso (tabla 7).

El pronóstico de la intoxicación viene indicado por la precocidad e intensidad del descenso de tiempo de protrombina²⁰⁹: si llega a ser inferior al 10% se considera letal; entre el 10 y 40% de gravedad moderada y si es superior al 40% de gravedad ligera²¹¹. Cuando la actividad de las

aminotransferasas en plasma es mayor de 1.000 U/l la tasa de mortalidad alcanza el 30-50%²¹¹. Sin embargo, es escaso el valor pronóstico de la bilirrubina y el de la creatinina plasmática, que aumenta al final del curso clínico fatal^{128,212}, o expresado de manera similar la asociación de encefalopatía y daño renal²⁰⁹. Finalmente, el inicio de la diarrea antes de 8 h después de la ingestión constituye un factor de mal pronóstico²⁰⁹.

Los supervivientes suelen evolucionar sin secuelas, aunque a tenor de los escasos informes publicados del seguimiento a medio y largo plazo, se puede admitir que un cierto número de pacientes progresará a enfermedad hepática crónica²¹³⁻²¹⁵.

Epidemiología

Los datos de los centros de información toxicológica muestran una incidencia de entre 2-6 posibles exposiciones por hongos por cada 1.000 consultas. En el año 2011 la *American Association of Poison Control Centers*, registró 6.818 exposiciones a hongos de un total de 2.334.004 consultas correspondientes a 57 centros (0,3%)²¹⁶. En España, según datos del Servicio de Información Toxicológica del Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses del Ministerio de Justicia, en un año se recogieron 187 consultas sobre hongos de un total de 77.000 exposiciones (0,23%)¹⁹. La incidencia de la intoxicación varía geográficamente y depende de factores como la dieta, el clima, el estilo de vida y los factores culturales²⁶. En España la incidencia es de 5-10 casos por millón de habitantes. De estos el 30% son por amatoxinas^{112,160}. En la figura 6 se presenta un ejemplo de incidencia de intoxicaciones por amatoxinas (positivas respecto al número de solicitudes) recogidas en el Hospital Clínic de Barcelona como centro de referencia entre 2001 y 2012.

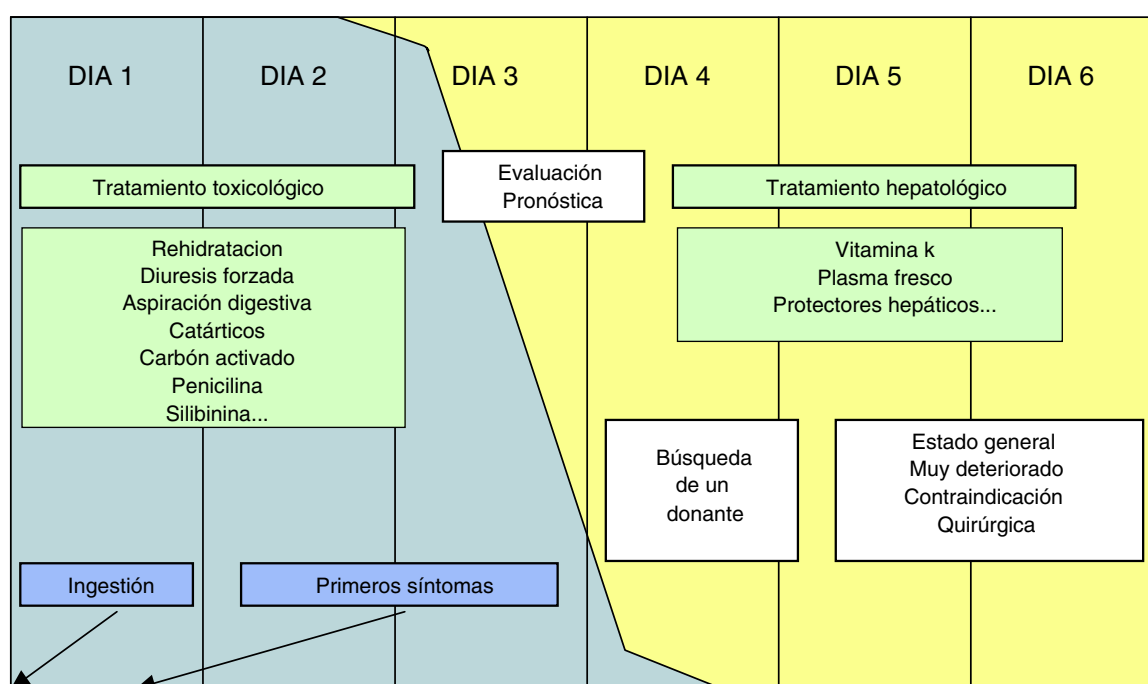
Las características de los intoxicados por micetismos presentan características muy especiales. Por lo general, son intoxicaciones típicamente estacionales, otoñales y de fin de semana, los denominados *Sunday pickers*²¹⁷. Parece ser que una mayoría de intoxicaciones, que puede ser de hasta el 80%, se observa en grupos de 2 o más personas. Así mismo, se afirma que la incidencia es ligeramente superior en el sexo masculino —56%— y con un perfil urbano (75%) frente al rural (tabla 8).

Tabla 7 Mortalidad de las intoxicaciones por setas hepatotóxicas

Periodo	Pacientes	Fallecidos	%	Referencia
1919-1958	280	86	30,7	Alder, 1961 ²¹⁸
1967-2002	198	23	11,6	Ganzert et al., 2005 ¹⁹⁷
1971-1980	205	46	22,4	Floersheim et al., 1982 ²¹¹
1980-1986	252	26	10,3	Hruby et al., 1979 ²¹⁹
07-11, 1981	44	4	9,1	Fantozzi et al., 1986 ²¹⁴
1982-1997	166	12	7,2	Piqueras, 2002 ²⁴
1982-2002	2.110	174	11,6	Enjalbert et al., 2002 ³
1988-2002	31 ^a	2	6,5	Giannini et al., 2007 ¹²⁶
1996-2006	2.400 ^b	22	0,91	Assisi et al., 2008 ²²⁰
2000-2004	34	2	5,9	Krenová et al., 2007 ²¹⁵
2007-2009	28	2	7,2	Gomótká et al., 2011 ¹¹⁸

^a Intoxicaciones graves: transaminasas > 2.000 UI/L.

^b Intoxicaciones con periodo de incubación largo.

**Figura 6** Relación entre evolución, tratamiento y pronóstico en la intoxicación por amanitinas.

Fuente: Piqueras²⁴.

Tabla 8 Características epidemiológicas de los micetismos

Intoxicación colectiva en el 80% de los casos
Estacional: en otoño (desde final de agosto a principio de diciembre)
Fin de semana: solicitud de asistencia en la madrugada o mañana del lunes
Afecta a todas las edades, sin diferencia de género, aunque la mayoría suelen ser adultos
Incidencia: 5-10 casos/millón habitantes/año (en España, 200-400 casos/año)
La mitad de las intoxicaciones no llega a los hospitales
De la mitad que consulta el 32,3% son formas graves del tipo <i>A. phalloides</i>

Aspectos legales

Las intoxicaciones por hongos no comestibles pueden ser accidentales o intencionadas, ya sea de autolisis o de carácter criminal. En estos casos tendrán las repercusiones e implicaciones legales correspondientes.

Respecto a los accidentes, hay que tener en cuenta que en ocasiones los hongos no comestibles son difíciles de identificar¹²⁷, y muchas veces es el consejo de personas inexpertas o la utilización de criterios erróneos de identificación («ennegrecimiento de un ajo al cocinarlas») causan la intoxicación. En estos casos las situaciones médico-legales que se derivan pueden estar relacionadas con la atención al paciente, en tiempo y forma, es el caso de las responsabilidades derivadas por posible demora en el diagnóstico o actuación diagnóstico-terapéutica no acorde con las

exigencias propias de la *lex artis*. Incluso en el ámbito ético y deontológico los posibles conflictos derivados de los criterios de indicación del trasplante hepático¹⁹. En otros casos y en ámbitos profesionales como la restauración y hostelería se podría incurrir en responsabilidades penales derivadas de posibles delitos contra la salud pública.

También se pueden plantear problemas médico legales y forenses en los casos de diagnóstico cierto de la causa de muerte derivada de una intoxicación por amanitinas. Se podría exigir la intervención como testigos de los profesionales sanitarios que atendieron al paciente, realizar informes periciales postmortem, exigibles para conocer la causa de la muerte suicida, homicida o accidental. En todos los casos debe recordarse la importancia médico-legal que adquiere la documentación clínica detallada, que debe constar en la historia clínica y en la que deben estar recogidas las actuaciones profesionales de carácter diagnóstico terapéutico que se hubieran realizado, intervención de profesionales, interconsultas, exámenes complementarios, informes de laboratorio o los criterios diagnóstico terapéuticos que se reflejan en la hoja de evolución. No debe olvidarse que la documentación clínica puede ser requerida por la administración de justicia a fin de resolver las cuestiones y circunstancias médico-legales que de deriven de este tipo de intoxicaciones.

Conclusión

La recolección y consumo de hongos silvestres es un hábito común en algunas zonas micófagas. Muchas veces la recolección se hace por personas inexpertas en el reconocimiento de especies tóxicas, por lo que supone un riesgo potencial. Aunque no sea un cuadro frecuente, la morbilidad asociada a esta exposición y la necesidad de instaurar precozmente un tratamiento hacen que sea conveniente un conocimiento actualizado tanto de la clínica como de las opciones terapéuticas. El laboratorio puede desempeñar un papel fundamental en el hecho de confirmar o descartar la sospecha de intoxicación. Actualmente se dispone de diferentes procedimientos para medir la concentración de amatoxinas en diferentes fluidos biológicos, siendo la orina el espécimen de elección, aunque no se han realizado estudios de validación completos de estos métodos, por lo que su utilidad es todavía relativa en la confirmación de una intoxicación que ha sido diagnosticada mediante la historia y la sintomatología clínica.

Conflicto de intereses

Ninguno.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer los consejos y sugerencias del Dr. J. Piqueras en la redacción del manuscrito.

Bibliografía

- Díaz JH. Syndromic diagnosis and management of confirmed mushroom poisonings. *Crit Care Med*. 2005;33:427–36.
- Díaz JH. Evolving global epidemiology, syndromic classification, general management, and prevention of unknown mushroom poisonings. *Crit Care Med*. 2005;33:419–26.
- Enjalbert F, Rapior S, Nougier-Soule J, Guillon S, Amouroux N, Cabot C. Treatment of amatoxin poisoning: 20-year retrospective analysis. *J Toxicol Clin Toxicol*. 2002;40:715–57.
- Faulstich H. New aspects of amanita poisoning. *Klin Wochenschr*. 1979;57:1143–52.
- Mitchel DH. Amanita mushroom poisoning. *Annu Rev Med*. 1980;31:51–7.
- Vargas N, Bernal A, Sarria V, Franco-Molano A, Restrepo S. Amatoxin and phalloidin composition in species of the genus *Amanita* in Colombia: A taxonomic perspective. *Toxicon*. 2011;58:583–90.
- Govindan VM, Faulstich H, Wieland T, Agostini B, Hasselbach W. In-vitro effect of phalloidin on plasma membrane preparation from rat liver. *Naturwissenschaften*. 1972;59:521–2.
- Frimmer M. What we have learned from phalloidin. *Toxicol Lett*. 1987;35:169–82.
- Enjalbert F, Gallion C, Jehl F, Monteil H. Toxin content, phallo-toxin and amatoxin composition of *Amanita phalloides* tissues. *Toxicon*. 1993;31:803–7.
- Wieland T. The toxic peptides from *Amanita* mushrooms. *Int J Pept Protein Res*. 1983;22:257–76.
- Wieland T, Faulstich H. Amatoxins, phallotoxins, phallolysin, and antamanide: The biologically active components of poisonous *Amanita* mushrooms. *CRC Crit Rev Biochem*. 1978;5:185–260.
- Erguven M, Yilmaz O, Deveci M, Aksu N, Dursun F, Pelit M, et al. Mushroom poisoning. *Indian J Pediatr*. 2007;74:847–52.
- Mushroom poisoning. *Lancet*. 1980;2:351–2.
- Paydas S, Kocak R, Erturk F, Erken E, Zaksu HS, Gurcay A. Poisoning due to amatoxin-containing *Lepiota* species. *Br J Clin Pract*. 1990;44:450–3.
- Pond SM, Olson KR, Woo OF, Osterloh JD, Ward RE, Kaufman DA, et al. Amatoxin poisoning in northern California, 1982–1983. *West J Med*. 1986;145:204–9.
- Vesconi S, Langer M, Iapichino G, Costantino D, Busi C, Fiume L. Therapy of cytotoxic mushroom intoxication. *Crit Care Med*. 1985;13:402–6.
- Scheurlen C, Spannbrucker N, Spengler U, Zachoval R, Schulte-Witte H, Brensing KA, et al. *Amanita phalloides* intoxications in a family of russian immigrants. Case reports and review of the literature with a focus on orthotopic liver transplantation. *Z Gastroenterol*. 1994;32:399–404.
- Stijve T, Seeger T. Determination of alpha-, beta-, and gamma-amanitin by high performance thin-layer chromatography in *Amanita phalloides* (Vaill ex Fr.) secr. from various origin. *Z Naturforsch C*. 1979;34:1133–8.
- Piqueras J. Intoxicaciones por setas. Una actualización. *Rev Esp Med Legal*. 2014;40:19–29.
- Van der Veer JB, Farley DL. Mushroom poisoning (mycetismus). Report of four cases. *Arch Intern Med (Chic)*. 1935;55:773–91.
- Marmion VJ, Wiedemann TE. The death of Claudius. *J R Soc Med*. 2002;95:260–1.
- McClain JL, Hause DW, Clark MA. *Amanita phalloides* mushroom poisoning: A cluster of four fatalities. *J Forensic Sci*. 1989;34:83–7.
- Ballesteros S. Revisión de los últimos cinco años de las intoxicaciones por setas. Nuevos síndromes y medidas terapéuticas. 2006 [consultado 1 Abr 2015]. Disponible en: <http://www.socmicolmadrid.org/noti/noticias81.html>
- Piqueras J. Caratteristiche epidemiologiche delle intossicazioni da funghi in Catalunya. *Pag Micologia*. 2002;17:151–4.
- Piering WF, Bratanow N. Role of the clinical laboratory in guiding treatment of *Amanita virosa* mushroom poisoning: Report of two cases. *Clin Chem*. 1990;36:571–4.

26. Leite MSCFM. Desenvolvimento e otimização de uma metodologia analítica para a determinação de α - e β -amanitina em urina humana por LC-MS/MS. Coimbra: Universidade de Coimbra; 2011.
27. Talamoni M, Cabrerizo S, Cari C, Díaz M, Ortiz de Rozas M, Sager I. Intoxicación por *Amanita phalloides*, diagnóstico y tratamiento. *Arch Argent Pediatr*. 2006;104:372–4.
28. Watson WA, Litovitz TL, Rodgers GC Jr, Klein-Schwartz W, Youniss J, Rose SR, et al. 2002 Annual report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System. *Am J Emerg Med*. 2003;21:353–421.
29. Zhou P, Xia J, Guo G, Huang ZX, Lu Q, Li L, et al. A Macaca mulatta model of fulminant hepatic failure. *World J Gastroenterol*. 2012;18:435–44.
30. Hallen HE, Luo H, Scott-Craig JS, Walton JD. Gene family encoding the major toxins of lethal *Amanita* mushrooms. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104:19097–101.
31. Enjalbert F, Cassanas G, Salhi SL, Guinchard C, Chaumont JP. Distribution of the amatoxins and phallotoxins in *Amanita phalloides*. Influence of the tissues and the collection site. *C R Acad Sci III*. 1999;322:855–62.
32. McKnight TA, McKnight KB, Skeels MC. Amatoxin and phallo-toxin concentration in *amanita bisporigera* spores. *Mycologia*. 2010;102:763–5.
33. Vetter J. Toxins of *Amanita phalloides*. *Toxicon*. 1998;36:13–24.
34. Leist M, Gantner F, Naumann H, Bluethmann H, Vogt K, Brigelius-Flohe R, et al. Tumor necrosis factor-induced apoptosis during the poisoning of mice with hepatotoxins. *Gastroenterology*. 1997;112:923–34.
35. Keding C, Gniazdowski M, Mandel JL Jr, Gissinger F, Chambon P. Alpha-amanitin: A specific inhibitor of one of two DNA-dependent RNA polymerase activities from calf thymus. *Biochem Biophys Res Commun*. 1970;38:165–71.
36. Stirpe F, Fiume L. Studies on the pathogenesis of liver necrosis by alpha-amanitin. Effect of alpha-amanitin on ribonucleic acid synthesis and on ribonucleic acid polymerase in mouse liver nuclei. *Biochem J*. 1967;105:779–82.
37. Cochet-Meilhac M, Chambon P. Animal DNA-dependent RNA polymerases 11. Mechanism of the inhibition of RNA polymerases B by amatoxins. *Biochim Biophys Acta*. 1974;353:160–84.
38. Lindell TJ, Weinberg F, Morris PW, Roeder RG, Rutter WJ. Specific inhibition of nuclear RNA polymerase II by alpha-amanitin. *Science*. 1970;170:447–9.
39. Gong XQ, Nedialkov YA, Burton ZF. Alpha-amanitin blocks translocation by human RNA polymerase II. *J Biol Chem*. 2004;279:27422–7.
40. Keding C, Simard R. The action of alpha-amanitin on RNA synthesis in Chinese hamster ovary cells. Ultrastructural and biochemical studies. *J Cell Biol*. 1974;63:831–42.
41. Bushnell DA, Cramer P, Kornberg RD. Structural basis of transcription: Alpha-amanitin-RNA polymerase II cocrystal at 2.8 Å resolution. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99:1218–22.
42. Wieland T, Faulstich H. Fifty years of amanitin. *Experientia*. 1991;47(11–12):1186–93.
43. Garroute C, Hemery M, Boudat AM, Kamar N. *Amanita phalloides* poisoning-induced end-stage renal failure. *Clin Nephrol*. 2009;71:571–4.
44. Santi L, Maggioli C, Mastroberto M, Tufoni M, Napoli L, Caraceni P. Acute liver failure caused by *Amanita phalloides* poisoning. *Int J Hepatol*. 2012;2012:487480.
45. Karlson-Stiber C, Persson H. Cytotoxic fungi-an overview. *Toxicon*. 2003;42:339–49.
46. Fiume L, Marinozzi V, Nardi F. The effects of amanitin poisoning on mouse kidney. *Br J Exp Pathol*. 1969;50:270–6.
47. Montanaro L, Novello F, Stirpe F. Inhibition of ribonucleic acid and of protein synthesis in the organs of rats and mice poisoned with alpha-amanitin. *Biochim Biophys Acta*. 1973;319:188–98.
48. Derenzini M, Betts CM, Busi C, Fiume L. Ultrastructural changes in beta-cells of pancreatic islets in alpha-amanitin-poisoned mice. *Virchows Arch B Cell Pathol*. 1978;28:13–20.
49. Zheleva A, Gadjeva V, Zhelev M. Free radical formation might contribute to the severe amatoxin hepatotoxicity. *Trakia Journal of Sciences*. 2003;1:42–5.
50. Magdalan J, Piotrowska A, Gomulkiewicz A, Sozanski T, Szela A, Dziegiel P. Influence of commonly used clinical antidotes on antioxidant systems in human hepatocyte culture intoxicated with alpha-amanitin. *Hum Exp Toxicol*. 2011;30:38–43.
51. Belliardo F, Massano G, Accomo S. Amatoxins do not cross the placental barrier. *Lancet*. 1983;1:1381.
52. Nagy I, Pogatsa-Murray G, Zalanyi S Jr, Komlosi P, Laszlo F, Ungi I. *Amanita* poisoning during the second trimester of pregnancy. A case report and a review of the literature. *Clin Investig*. 1994;72:794–8.
53. Timar L, Czeizel AE. Birth weight and congenital anomalies following poisonous mushroom intoxication during pregnancy. *Reprod Toxicol*. 1997;11:861–6.
54. Boyer JC, Hernandez F, Estorc J, de la Coussaye JE, Bali JP. Management of maternal *Amanita phalloides* poisoning during the first trimester of pregnancy: A case report and review of the literature. *Clin Chem*. 2001;47:971–4.
55. Kaufmann M, Muller A, Paweletz N, Haller U, Kubli F. Fetale Schädigung bei einer Knollenblätterpilzvergiftung der Mutter in der Frühschwangerschaft. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 1978;38:122–4.
56. Faulstich H. Interactions of hepatotoxic agents with proteins and subcellular structures. *Toxicology*. 1980;18:205–11.
57. Wong JH, Ng TB. Toxins from Basidiomycete fungi (mushroom): Amatoxins, phallotoxins, and virotoxins. En: Kastin AJ, editor. *Handbook of biologically active peptides*. Burlington, MA: Academic Press; 2006. p. 131–5.
58. Faulstich H, Buku A, Bodenmuller H, Wieland T. Virotoxins: Actin-binding cyclic peptides of *Amanita virosa* mushrooms. *Biochemistry*. 1980;19:3334–43.
59. Köppel C. Clinical symptomatology and management of mushroom poisoning. *Toxicon*. 1993;31:1513–40.
60. Faulstich H, Jahn W, Wieland T. Silybin inhibition of amatoxin uptake in the perfused rat liver. *Arzneimittelforschung*. 1980;30:452–4.
61. Kröncke KD, Fricker G, Meier PJ, Gerok W, Wieland T, Kurz G. Alpha-amanitin uptake into hepatocytes. Identification of hepatic membrane transport systems used by amatoxins. *J Biol Chem*. 1986;261:12562–7.
62. Gundala S, Wells LD, Milliano MT, Talkad V, Luxon BA, Neuschwander-Tetri BA. The hepatocellular bile acid transporter Ntcp facilitates uptake of the lethal mushroom toxin alpha-amanitin. *Arch Toxicol*. 2004;78:68–73.
63. Abe T, Kakyō M, Tokui T, Nakagomi R, Nishio T, Nakai D, et al. Identification of a novel gene family encoding human liver-specific organic anion transporter LST-1. *J Biol Chem*. 1999;274:17159–63.
64. Hagenbuch B, Meier PJ. Organic anion transporting polypeptides of the OATP/SLC21 family: Phylogenetic classification as OATP/SLCO superfamily, new nomenclature and molecular/functional properties. *Pflugers Arch*. 2004;447:653–65.
65. Hsiang B, Zhu Y, Wang Z, Wu Y, Sasseville V, Yang WP, et al. A novel human hepatic organic anion transporting polypeptide (OATP2) Identification of a liver-specific human organic anion transporting polypeptide and identification of rat and human hydroxymethylglutaryl-CoA reductase inhibitor transporters. *J Biol Chem*. 1999;274:37161–8.
66. König J, Cui Y, Nies AT, Keppler D. A novel human organic anion transporting polypeptide localized to the basolateral hepatocyte membrane. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2000;278:G156–64.

67. König J, Cui Y, Nies AT, Keppler D. Localization and genomic organization of a new hepatocellular organic anion transporting polypeptide. *J Biol Chem*. 2000;275:23161–8.
68. Kullak-Ublick GA, Ismail MG, Stieger B, Landmann L, Huber R, Pizzagalli F, et al. Organic anion-transporting polypeptide B (OATP-B) and its functional comparison with three other OATPs of human liver. *Gastroenterology*. 2001;120:525–33.
69. Tamai I, Nezu J, Uchino H, Sai Y, Oku A, Shimane M, et al. Molecular identification and characterization of novel members of the human organic anion transporter (OATP) family. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;273:251–60.
70. Letschert K, Faulstich H, Keller D, Keppler D. Molecular characterization and inhibition of amanitin uptake into human hepatocytes. *Toxicol Sci*. 2006;91:140–9.
71. Cui Y, König J, Leier I, Buchholz U, Keppler D. Hepatic uptake of bilirubin and its conjugates by the human organic anion transporter SLC21A6. *J Biol Chem*. 2001;276:9626–30.
72. Homann J, Rawer P, Bleyl H, Matthes KJ, Heinrich D. Early detection of amanitoxins in human mushroom poisoning. *Arch Toxicol*. 1986;59:190–1.
73. Fiume L, Sperti S, Montanaro L, Busi C, Costantino D. Amanitins do not bind to serum albumin. *Lancet*. 1977;1:1111.
74. Faulstich H, Talas A, Wellhöner HH. Toxicokinetics of labeled amatoxins in the dog. *Arch Toxicol*. 1985;56:190–4.
75. Filigenzi MS, Poppenga RH, Tiwary AK, Puschner B. Determination of alpha-amanitin in serum and liver by multistage linear ion trap mass spectrometry. *J Agric Food Chem*. 2007;55:2784–90.
76. Busi C, Fiume L, Costantino D, Langer M, Vesconi F. Amanita toxins in gastroduodenal fluid of patients poisoned by the mushroom, *Amanita phalloides*. *N Engl J Med*. 1979;300:800.
77. Jaeger A, Jehl F, Flesch F, Sauder P, Kopferschmitt J. Kinetics of amatoxins in human poisoning: Therapeutic implications. *J Toxicol Clin Toxicol*. 1993;31:63–80.
78. Thiel C, Thiel K, Klingert W, Diewold A, Scheuermann K, Hawerkamp E, et al. The enterohepatic circulation of amanitin: Kinetics and therapeutic implications. *Toxicol Lett*. 2011;203:142–6.
79. Piqueras J, Ventura S, Ros J, Robirosa M. Aportació del laboratori clínic al diagnòstic dels micetismes. *In Vitro Veritas*. 2012;13:1–8.
80. Michelot D, Labia R. Alpha-amanitin: A possible suicide substrate-like toxin involving the sulphoxide moiety of the bridged cyclopeptide. *Drug Metabol Drug Interact*. 1988;6:265–74.
81. Eren SH, Demirel Y, Ugurlu S, Korkmaz I, Aktas C, Guven FM. Mushroom poisoning: Retrospective analysis of 294 cases. *Clinics (Sao Paulo)*. 2010;65:491–6.
82. Legrand C, Bour JM, Jacob C, Capiaumont J, Martial A, Marc A, et al. Lactate dehydrogenase (LDH) activity of the cultured eukaryotic cells as marker of the number of dead cells in the medium. *J Biotechnol*. 1992;25:231–43.
83. Kelner MJ, Alexander NM. Endocrine hormone abnormalities in *Amanita* poisoning. *J Toxicol Clin Toxicol*. 1987;25:21–37.
84. Eyer F, Felgenhauer N, Zilker T. Die entwicklung eines toxischen megakolons bei knollenblätterpilzvergiftungen. *Dtsch Med Wochenschr*. 2004;129:137–40.
85. Faulstich H. Mushroom poisoning. *Lancet*. 1980;2:794–5.
86. Aji DY, Caliskan S, Nayir A, Mat A, Can B, Yasar Z, et al. Haemoperfusion in *Amanita phalloides* poisoning. *J Trop Pediatr*. 1995;41:371–4.
87. Iliev Y, Andonova S, Akabaliev V. Our experience in the treatment of acute *Amanita phalloides* poisoning. *Folia Med*. 1999;41:30–7.
88. Madhok M, Scalzo AJ, Blume CM, Neuschwander-Tetri BA, Weber JA, Thompson MW. *Amanita bisporigera* ingestion: Mistaken identity, dose-related toxicity, and improvement despite severe hepatotoxicity. *Pediatr Emerg Care*. 2006;22:177–80.
89. Iturralde Pardo MJ. Métodos actuales de diagnóstico de laboratorio en las intoxicaciones por setas con interés forense. *Estudios Jurídicos Médicos Forenses*. 2004;2004:4057–98.
90. Barbato MP. Poisoning from accidental ingestion of mushrooms. *Med J Aust*. 1993;158:842–7.
91. Hall AH, Spoerke DG, Rumack BH. Mushroom poisoning: Identification, diagnosis, and treatment. *Pediatr Rev*. 1987;8:291–8.
92. Kapala M, Nowacka A, Kicka M, Rakowski M. Mushroom (fungi) poisonings investigated at the regional centre of acute poisoning, Institute of Occupational Medicine and Environmental Health, Sosnowiec, Poland. *ZZNSC (Problems of Forensic Sciences)*. 2008;75:282–93.
93. Wieland T. Über die Giftstoffe des Knollenblätterpilzes VII. β -Amanitin, eine dritte Komponente des Knollenblätterpilzgiftes. Unter Mitarbeit von Liselotte Wirth und Edgar Fischer. *Liebigs Ann Chem*. 1949;564:152–60.
94. Meixner A. Amatoxin-nachweis in pilzen. *Z Mykol*. 1979;45:137–40.
95. Beuhler M, Lee DC, Gerkin R. The Meixner test in the detection of alpha-amanitin and false-positive reactions caused by psilocin and 5-substituted tryptamines. *Ann Emerg Med*. 2004;44:114–20.
96. Olson KR, Pond SM, Seward J, Healey K, Woo OF, Becker CE. *Amanita phalloides*-type mushroom poisoning. *West J Med*. 1982;137:282–9.
97. Seeger R. Zeitungspapiertest für Amanitine. Falsch-positive Ergebnisse. *Zeitschrift für Mykologie*. 1984;50:353–9.
98. Beutler JA, Vergeer PP. Amatoxins in American mushrooms: Evaluation of the Meixner test. *Mycologia*. 1980;72:1142–9.
99. Brüggemann O, Meder M, Freitag R. Analysis of amatoxins alpha-amanitin and beta-amanitin in toadstool extracts and body fluids by capillary zone electrophoresis with photodiode array detection. *J Chromatogr A*. 1996;744:167–76.
100. Armstrong JL, Fowles NL, Rygielwicz PT. Restriction fragment length polymorphisms distinguish ectomycorrhizal fungi. *Plant and Soil*. 1989;116:1–7.
101. Sgambelluri RM, Epis S, Sassera D, Luo H, Angelos ER, Walton JD. Profiling of amatoxins and phallotoxins in the genus *Lepiota* by liquid chromatography combined with UV absorbance and mass spectrometry. *Toxins (Basel)*. 2014;6:2336–47.
102. Kotlowski R, Myjak P, Kur J. Specific detection of *Amanita phalloides* mycelium and spores by PCR amplification of the GPD (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) gene fragment. *J Food Biochem*. 2000;24:201–12.
103. Gausterer C, Penker M, Krisai-Greilhuber I, Stein C, Stimpfl T. Rapid genetic detection of ingested *Amanita phalloides*. *Forensic Sci Int Genet*. 2014;9:66–71.
104. Harmsen MC, Schuren FH, Moukha SM, van Zuilen CM, Punt PJ, Wessels JG. Sequence analysis of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase genes from the basidiomycetes *Schizophyllum commune*, *Phanerochaete chrysosporium* and *Agaricus bisporus*. *Curr Genet*. 1992;22:447–54.
105. Maeta K, Ochi T, Tokimoto K, Shimomura N, Maekawa N, Kawaguchi N, et al. Rapid species identification of cooked poisonous mushrooms by using real-time PCR. *Appl Environ Microbiol*. 2008;74:3306–9.
106. Epis S, Matinato C, Gentili G, Varotto F, Bandi C, Sassera D. Molecular detection of poisonous mushrooms in different matrices. *Mycologia*. 2010;102:747–54.
107. Harper KA, Smart CD, Davis RM. Development of a DNA-based microarray for the detection and identification of *Amanita* species. *J Forensic Sci*. 2011;56:1003–9.
108. Butera R, Locatelli C, Coccini T, Manzo L. Diagnostic accuracy of urinary amanitin in suspected mushroom poisoning: A pilot study. *J Toxicol Clin Toxicol*. 2004;42:901–12.

109. Maurer HH, Schmitt CJ, Weber AA, Kraemer T. Validated electrospray liquid chromatographic-mass spectrometric assay for the determination of the mushroom toxins alpha- and beta-amanitin in urine after immunoaffinity extraction. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 2000;748:125–35.
110. Parant F, Peltier L, Lardet G, Pulce C, Descotes J, Moulisma M. Syndrome phalloïdien: Quelle est la place du dosage des α -et β -amanitines par ELISA (Bühlmann)? Résultats préliminaires. *Acta Clin Belg Suppl.* 2006;1:11–7.
111. Defendenti C, Bonacina E, Mauroni M, Gelosa L. Validation of a high performance liquid chromatographic method for alpha amanitin determination in urine. *Forensic Sci Int.* 1998;92:59–68.
112. De Andrés RM, Villarroel P, Fernández F, Canora J, Pardo P, Quintana M, et al. Guía de actuación ante sospecha de intoxicación por setas. Micetismos. Madrid: Salud Madrid. Subdirección de Gestión y Seguimiento de Objetivos en Hospitales; 2010.
113. Calmette A, Delarde A. Les toxines non microbiennes et le mécanisme de l'immunité produite par les sérums antitoxiques. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1897;10:675–707.
114. Faulstich H, Trischmann H. Toxicity of and inhibition of RNA polymerase by alpha-amanitin bound to macromolecules by an Azo linkage. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem.* 1973;354:1395–8.
115. Faulstich H, Trischmann H, Zobeley S. A radioimmunoassay for amanitin. *FEBS Lett.* 1975;56:312–5.
116. Andres RY, Frei W, Gautschi K, Vonderschmitt DJ. Radioimmunoassay for amatoxins by use of a rapid, ^{125}I -tracer-based system. *Clin Chem.* 1986;32:1751–5.
117. Fiume L, Busi C, Campadelli-Fiume G, Franceschi C. Production of antibodies to amanitins as the basis for their radioimmunoassay. *Experientia.* 1975;31:1233–4.
118. Gomółka E, Szpak D, Morawska A. Evaluation of the diagnostic usefulness of amanitin determination by enzyme-link immunosorbent assay (ELISA). *ZZNSC (Problems of Forensic Sciences).* 2011;85:64–74.
119. Maurer HH, Kraemer T, Ledvinka O, Schmitt CJ, Weber AA. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) in toxicological analysis. Studies on the detection of clobenzorex and its metabolites within a systematic toxicological analysis procedure by GC-MS and by immunoassay and studies on the detection of alpha- and beta-amanitin in urine by atmospheric pressure ionization electrospray LC-MS. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1997;689:81–9.
120. Zhou Z, Cao M, Zhou L, Zuo X, Tang Y. Determination of α -amanitin in human serum by solid-phase extracton coupled with HPLC-UV. *LC GC N Am.* 2011;29. Disponible en: <http://www.chromatographyonline.com/determination-amanitin-human-serum-solid-phase-extracton-coupled-hplc-uv>
121. Jehl F, Gallion C, Birckel P, Jaeger A, Flesch F, Minck R. Determination of alpha-amanitin and beta-amanitin in human biological fluids by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem.* 1985;149:35–42.
122. Tagliaro F, Schiavon G, Bontempelli G, Carli G, Marigo M. Improved high-performance liquid chromatographic determination with amperometric detection of alpha-amanitin in human plasma based on its voltammetric study. *J Chromatogr.* 1991;563:299–311.
123. Rittgen J, Putz M, Pyell U. Identification of toxic oligopeptides in Amanita fungi employing capillary electrophoresis-electrospray ionization-mass spectrometry with positive and negative ion detection. *Electrophoresis.* 2008;29:2094–100.
124. Robinson-Fuentes VA, Jaime-Sánchez JL, Garcia-Aguilar L, Gómez-Peralta M, Vázquez-Garcidueñas MS, Vázquez-Marrufo G. Determination of alpha- and beta-amanitin in clinical urine samples by capillary zone electrophoresis. *J Pharm Biomed Anal.* 2008;47:913–7.
125. Poucheret P, Fons F, Dore JC, Michelot D, Rapior S. Amatoxin poisoning treatment decision-making: Pharmacotherapeutic clinical strategy assessment using multidimensional multivariate statistic analysis. *Toxicol.* 2010;55:1338–45.
126. Giannini L, Vannacci A, Missanelli A, Mastroianni R, Mannaioni PF, Moroni F, et al. Amatoxin poisoning: A 15-year retrospective analysis and follow-up evaluation of 105 patients. *Clin Toxicol (Phila).* 2007;45:539–42.
127. Klein AS, Hart J, Brems JJ, Goldstein L, Lewin K, Busuttil RW. Amanita poisoning: Treatment and the role of liver transplantation. *Am J Med.* 1989;86:187–93.
128. Pinson CW, Daya MR, Benner KG, Norton RL, Deveney KE, Ascher NL, et al. Liver transplantation for severe Amanita phalloides mushroom poisoning. *Am J Surg.* 1990;159:493–9.
129. Masini E, Blandina P, Mannaioni PF. Removal of alpha-amanitin from blood by hemoperfusion over uncoated charcoal. Experimental results. *Contrib Nephrol.* 1982;29:76–81.
130. Weber T. Mushroom poisoning. *Lancet.* 1980;2(8195 pt 1):640.
131. Covic A, Goldsmith DJ, Gusbeth-Tatomir P, Volovat C, Dimitriu AG, Cristogel F, et al. Successful use of molecular absorbent regenerating system (MARS) dialysis for the treatment of fulminant hepatic failure in children accidentally poisoned by toxic mushroom ingestion. *Liver Int.* 2003;23 Suppl 3:21–7.
132. Mullins ME, Horowitz BZ. The utility of hemoperfusion and hemodialysis in Amanita phalloides poisoning. *Vet Hum Toxicol.* 2000;42:90–1.
133. Mercuriali F, Sirchia G. Plasma exchange for mushroom poisoning. *Transfusion.* 1977;17:644–6.
134. Vesconi S, Langer M, Costantino D. Mushroom poisoning and forced diuresis. *Lancet.* 1980;2:854–64.
135. Erden A, Esmeray K, Karagoz H, Karahan S, Gumuscu HH, Basak M, et al. Acute liver failure caused by mushroom poisoning: A case report and review of the literature. *Int Med Case Rep J.* 2013;6:85–90.
136. Jander S, Bischoff J, Woodcock BG. Plasmapheresis in the treatment of Amanita phalloides poisoning: II. A review and recommendations. *Ther Apher.* 2000;4:308–12.
137. Steyn DG. The treatment of cases of Amanita phalloides and Amanita capensis poisoning. *S Afr Med J.* 1966;40:405–6.
138. Kendrick B, Shimizu A. Mushroom poisoning: Analysis of two cases, and a possible new treatment, plasmapheresis. *Mycologia.* 1984;76:448–53.
139. Stange J, Mitzner SR, Risler T, Erley CM, Lauchart W, Goehl H, et al. Molecular adsorbent recycling system (MARS): Clinical results of a new membrane-based blood purification system for bioartificial liver support. *Artif Organs.* 1999;23:319–30.
140. Wittebole X, Hantson P. Use of the molecular adsorbent recirculating system (MARS) for the management of acute poisoning with or without liver failure. *Clin Toxicol (Phila).* 2011;49:782–93.
141. Stange J, Ramlow W, Mitzner S, Schmidt R, Klinkmann H. Dialysis against a recycled albumin solution enables the removal of albumin-bound toxins. *Artif Organs.* 1993;17:809–13.
142. Faybik P, Hetz H, Baker A, Bittermann C, Berlakovich G, Werba A, et al. Extracorporeal albumin dialysis in patients with Amanita phalloides poisoning. *Liver Int.* 2003;23 Suppl 3:28–33.
143. Shi Y, He J, Chen S, Zhang L, Yang X, Wang Z, et al. MARS: Optimistic therapy method in fulminant hepatic failure secondary to cytotoxic mushroom poisoning—a case report. *Liver.* 2002;22 Suppl 2:78–80.
144. Heemann U, Treichel U, Loock J, Philipp T, Gerken G, Malago M, et al. Albumin dialysis in cirrhosis with superimposed acute liver injury: A prospective controlled study. *Hepatology.* 2002;36 4 Pt 1:949–58.
145. Catalina MV, Núñez O, Ponferrada A, Menchen L, Matilla A, Clemente G, et al. Toxicidad hepática por ingesta de setas: curso

- clínico y nuevas perspectivas de tratamiento. *Gastroenterol Hepatol*. 2003;26:417–20.
146. Sorodoc L, Lionte C, Sorodoc V, Petris O, Jaba I. Is MARS system enough for A phalloides-induced liver failure treatment? *Hum Exp Toxicol*. 2010;29:823–32.
 147. Nogué S, Simón J, Blanché C, Piqueras J. Intoxicaciones por plantas y setas. Barcelona: Laboratorios Menarini, S.A; 2009 [consultado 1 de Abr 2015]. Disponible en: http://www.fetoc.es/asistencia/intoxicaciones_plantas_y_setas_completo_2009.pdf.
 148. Becker CE, Tong TG, Boerner U, Roe RL, Sco TA, MacQuarrie MB, et al. Diagnosis and treatment of *Amanita phalloides*-type mushroom poisoning: Use of thioctic acid. *West J Med*. 1976;125:100–9.
 149. Finestone AJ, Berman R, Widmer B, Markowitz J, Laquer UJ. Thioctic acid treatment of acute mushroom poisoning. *Pa Med*. 1972;75:49–51.
 150. Plotzker R, Jensen DM, Payne JA. Case report. *Amanita virosa* acute hepatic necrosis: Treatment with thioctic acid. *Am J Med Sci*. 1982;283:79–82.
 151. Floersheim GL, Bianchi L. Ethanol diminishes the toxicity of the mushroom *Amanita phalloides*. *Experientia*. 1984;40:1268–70.
 152. Schneider SM, Borochovit D, Krenzelok EP. Cimetidine protection against alpha-amanitin hepatotoxicity in mice: A potential model for the treatment of *Amanita phalloides* poisoning. *Ann Emerg Med*. 1987;16:1136–40.
 153. Schneider SM, Vanscoy G, Michelson EA. Failure of cimetidine to affect phalloidin toxicity. *Vet Hum Toxicol*. 1991;33:17–8.
 154. Chang IM. Liver-protective activities of aucubin derived from traditional oriental medicine. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*. 1998;102:189–204.
 155. Floersheim GL, Bieri A, Koenig R, Pletscher A. Protection against *Amanita phalloides* by the iridoid glycoside mixture of *Picrorhiza kurroa* (kutkin). *Agents Actions*. 1990;29:386–7.
 156. Daoudal P, Noirot A, Wagschal G, Neftel K, Hany M, Clement D, et al. Traitement de l'intoxication phalloïdienne par silymarine et ceftazidime. *Presse Med*. 1989;18:1341–2.
 157. Moroni F, Fantozzi R, Masini E, Mannaioni PF. A trend in the therapy of *Amanita phalloides* poisoning. *Arch Toxicol*. 1976;36:111–5.
 158. Floersheim GL. Experimentelle Grundlagen zur Therapie von Vergiftungen durch den grünen Knollenblätterpilz (*Amanita phalloides*). *Schweiz Med Wochenschr*. 1978;108:185–97.
 159. Cottagnoud P, Neftel KA. Beta-lactams act on DNA synthesis in K-562 cells. *Cell Biol Toxicol*. 1986;2:523–9.
 160. Benítez-Macías JF, García-Gil D, Brun-Romero FM, Nogué-Xarau S. Intoxicaciones agudas por setas. *Rev Clín Esp*. 2009;209:542–9.
 161. Lewis RK, Palouche FP. Assessment and treatment of acetaminophen overdose. *Clin Pharm*. 1991;10:765–74.
 162. Mas A, Nogué S. N-acetilcisteína en el tratamiento de la intoxicación por *Amanita phalloides*. *Med Clin (Barc)*. 2009;133(12):486.
 163. Fernández de Larrea C, Lozano M, Castro P, Nicolás JM. Reducción de la tasa de protombina causada por la administración de N-acetilcisteína en el tratamiento de la intoxicación por *Amanita phalloides*. *Med Clin (Barc)*. 2008;131:717–8.
 164. Lee WM, Hynan LS, Rossaro L, Fontana RJ, Stravitz RT, Larson AM, et al. Intravenous N-acetylcysteine improves transplant-free survival in early stage non-acetaminophen acute liver failure. *Gastroenterology*. 2009;137:856–64.
 165. Montanini S, Sinardi D, Pratico C, Sinardi AU, Trimarchi G. Use of acetylcysteine as the life-saving antidote in *Amanita phalloides* (death cap) poisoning. Case report on 11 patients. *Arzneimittelforschung*. 1999;49:1044–7.
 166. Zheleva A, Michelot D, Zhelev ZD. Sensitivity of alpha-amanitin to oxidation by a lactoperoxidase-hydrogen peroxide system. *Toxicon*. 2000;38:1055–63.
 167. Piqueras J. Reducción de la tasa de protrombina causada por la administración de N-acetilcisteína en el tratamiento de la intoxicación por *Amanita phalloides*. *Med Clin (Barc)*. 2010;134:182.
 168. Jang DH, Weaver MD, Pizon AF. In vitro study of N-acetylcysteine on coagulation factors in plasma samples from healthy subjects. *J Med Toxicol*. 2013;9:49–53.
 169. Niemi TT, Munsterhjelm E, Poyhia R, Hynninen MS, Salmenpera MT. The effect of N-acetylcysteine on blood coagulation and platelet function in patients undergoing open repair of abdominal aortic aneurysm. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2006;17:29–34.
 170. Thorsen S, Teisner A, Jensen SA, Philips M, Dalhoff K, Bendtsen F. Effect of N-acetylcysteine on the accuracy of the prothrombin time assay of plasma coagulation factor II + VII + X activity in subjects infused with the drug. Influence of time and temperature. *Scand J Clin Lab Invest*. 2009;69:643–50.
 171. Desplaces A, Choppin J, Vogel G, Trost W. The effects of silymarin on experimental phalloidine poisoning. *Arzneimittelforschung*. 1975;25:89–96.
 172. Floersheim GL, Eberhard M, Tschumi P, Duckert F. Effects of penicillin and silymarin on liver enzymes and blood clotting factors in dogs given a boiled preparation of *Amanita phalloides*. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1978;46:455–62.
 173. Bosio E, Benelli C, Pirola O. Effect of the flavanolignans of *Silybum marianum* L on lipid peroxidation in rat liver microsomes and freshly isolated hepatocytes. *Pharmacol Res*. 1992;25:147–54.
 174. Dehmlow C, Murawski N, de Groot H. Scavenging of reactive oxygen species and inhibition of arachidonic acid metabolism by silibinin in human cells. *Life Sci*. 1996;58:1591–600.
 175. Ramellini G, Meldolesi J. Stabilization of isolated rat liver plasma membranes by treatment in vitro with silymarin. *Arzneimittelforschung*. 1974;24:806–8.
 176. Zhou S, Lim LY, Chowbay B. Herbal modulation of P-glycoprotein. *Drug Metab Rev*. 2004;36:57–104.
 177. Saller R, Meier R, Brignoli R. The use of silymarin in the treatment of liver diseases. *Drugs*. 2001;61:2035–63.
 178. Saliou C, Valacchi G, Rimbach G. Assessing bioflavonoids as regulators of NF-kappa B activity and inflammatory gene expression in mammalian cells. *Methods Enzymol*. 2001;335:380–7.
 179. Fuchs EC, Weyhenmeyer R, Weiner OH. Effects of silibinin and of a synthetic analogue on isolated rat hepatic stellate cells and myofibroblasts. *Arzneimittelforschung*. 1997;47:1383–7.
 180. Gazak R, Walterova D, Kren V. Silybin and silymarin: new emerging applications in medicine. *Curr Med Chem*. 2007;14:315–38.
 181. Pliskova M, Vondracek J, Kren V, Gazak R, Sedmera P, Walterova D, et al. Effects of silymarin flavonolignans and synthetic silybin derivatives on estrogen and aryl hydrocarbon receptor activation. *Toxicology*. 2005;215:80–9.
 182. Seidlova-Wuttke D, Becker T, Christoffel V, Jarry H, Wuttke W. Silymarin is a selective estrogen receptor beta (ERbeta) agonist and has estrogenic effects in the metaphysis of the femur but no or antiestrogenic effects in the uterus of ovariectomized (ovx) rats. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2003;86:179–88.
 183. Gallo D, Giacomelli S, Ferlini C, Raspaglio G, Apollonio P, Prislei S, et al. Antitumor activity of the silybin-phosphatidylcholine complex, IdB 1016, against human ovarian cancer. *Eur J Cancer*. 2003;39:2403–10.
 184. Magdalan J, Ostrowska A, Piotrowska A, Izykowska I, Nowak M, Szelag A, et al. Failure of benzylpenicillin, N-acetylcysteine and silibinin to reduce alpha-amanitin hepatotoxicity. *In Vivo*. 2009;23:393–9.
 185. Tong TC, Hernandez M, Richardson WH 3rd, Betten DP, Favata M, Riffenburgh RH, et al. Comparative treatment of

- alpha-amanitin poisoning with N-acetylcysteine, benzylpenicillin, cimetidine, thioctic acid, and silybin in a murine model. *Ann Emerg Med.* 2007;50:282–8.
186. Links M, Lewis C. Chemoprotectants: A review of their clinical pharmacology and therapeutic efficacy. *Drugs.* 1999;57:293–308.
187. Marzatico F, Porta C, Moroni M, Bertorelli L, Borasio E, Finotti N, et al. In vitro antioxidant properties of amifostine (WR-2721, Ethylol). *Cancer Chemother Pharmacol.* 2000;45:172–6.
188. Spencer CM, Goa KL. Amifostine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential as a radioprotector and cytotoxic chemoprotector. *Drugs.* 1995;50:1001–31.
189. Mabro M, Faivre S, Raymond E. A risk-benefit assessment of amifostine in cytoprotection. *Drug Saf.* 1999;21:367–87.
190. Wills BK, Haller NA, Peter D, White LJ. Use of amifostine, a novel cytoprotective, in alpha-amanitin poisoning. *Clin Toxicol (Phila).* 2005;43:261–7.
191. Woodle ES, Moody RR, Cox KL, Cannon RA, Ward RE. Orthotopic liver transplantation in a patient with Amanita poisoning. *JAMA.* 1985;253:69–70.
192. Rosenthal P. Auxiliary liver transplantation for toxic mushroom poisoning. *J Pediatr.* 2001;138:449–50.
193. Lake JR, Sussman NL. Determining prognosis in patients with fulminant hepatic failure: When you absolutely, positively have to know the answer. *Hepatology.* 1995;21:879–82.
194. Van Thiel DH. When should a decision to proceed with transplantation actually be made in cases of fulminant or subfulminant hepatic failure: At admission to hospital or when a donor organ is made available? *J Hepatol.* 1993;17:1–2.
195. Bernuau J, Goudeau A, Poynard T, Dubois F, Lesage G, Yvonne B, et al. Multivariate analysis of prognostic factors in fulminant hepatitis B. *Hepatology.* 1986;6:648–51.
196. O'Grady JG, Alexander GJ, Hayllar KM, Williams R. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology.* 1989;97:439–45.
197. Ganzert M, Felgenhauer N, Zilker T. Indication of liver transplantation following amatoxin intoxication. *J Hepatol.* 2005;42:202–9.
198. Bernal W, Donaldson N, Wyncoll D, Wendon J. Blood lactate as an early predictor of outcome in paracetamol-induced acute liver failure: a cohort study. *Lancet.* 2002;359:558–63.
199. Bernal W, Wendon J. Liver transplantation in adults with acute liver failure. *J Hepatol.* 2004;40:192–7.
200. Lee WM. Acute liver failure. *N Engl J Med.* 1993;329:1862–72.
201. Burton JR Jr, Ryan C, Shaw-Stiffel TA. Liver transplantation in mushroom poisoning. *J Clin Gastroenterol.* 2002;35:276–80.
202. Anand AC, Nightingale P, Neuberger JM. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure: An assessment of the King's criteria. *J Hepatol.* 1997;26:62–8.
203. Mutimer DJ, Ayres RC, Neuberger JM, Davies MH, Holguin J, Buckels JA, et al. Serious paracetamol poisoning and the results of liver transplantation. *Gut.* 1994;35:809–14.
204. Pauwels A, Mostefa-Kara N, Florent C, Levy VG. Emergency liver transplantation for acute liver failure. Evaluation of London and Clichy criteria. *J Hepatol.* 1993;17:124–7.
205. Shakil AO, Kramer D, Mazariegos GV, Fung JJ, Rakela J. Acute liver failure: Clinical features, outcome analysis, and applicability of prognostic criteria. *Liver Transpl.* 2000;6:163–9.
206. Bernuau J. Selection for emergency liver transplantation. *J Hepatol.* 1993;19:486–7.
207. Beckurts KT, Holscher AH, Heidecke CD, Zilker TR, Natrath W, Siewert JR. Die Rolle der Lebertransplantation im Behandlungskonzept des akuten Leberversagens nach Knollenblätterpilzvergiftung. *Dtsch Med Wochenschr.* 1997;122:351–5.
208. Bernuau J, Durand F, Valla D. Indication of liver transplantation following amatoxin intoxication: A word of caution. *J Hepatol.* 2005;43:184–5.
209. Escudié L, Francoz C, Vinel JP, Moucari R, Cournot M, Paradis V, et al. Amanita phalloides poisoning: Reassessment of prognostic factors and indications for emergency liver transplantation. *J Hepatol.* 2007;46:466–73.
210. Laifer SA, Darby MJ, Scantlebury VP, Harger JH, Caritis SN. Pregnancy and liver transplantation. *Obstet Gynecol.* 1990;76:1083–8.
211. Floersheim GL, Weber O, Tschumi P, Ulbrich M. Die Klinische Knollenblätterpilzvergiftung (Amanita phalloides) prognostische Faktoren und therapeutische Massnahmen. *Schweiz Med Wochenschr.* 1982;112:1164–77.
212. Zilker T. Diagnose und Therapie der Pilzvergiftungen (teil II). *Leber Magen Darm.* 1987;17:173–97.
213. Bartoloni St Omer F, Giannini A, Botti P, Caramelli L, Ledda F, Peruzzi S, et al. Amanita poisoning: A clinical-histopathological study of 64 cases of intoxication. *Hepatogastroenterology.* 1985;32:229–31.
214. Fantozzi R, Ledda F, Caramelli L, Moroni F, Blandina P, Masini E, et al. Clinical findings and follow-up evaluation of an outbreak of mushroom poisoning-survey of Amanita phalloides poisoning. *Klin Wochenschr.* 1986;64:38–43.
215. Krenová M, Pelclova D, Navratil T. Survey of Amanita phalloides poisoning: Clinical findings and follow-up evaluation. *Hum Exp Toxicol.* 2007;26:955–61.
216. Piqueras J. Intoxicaciones por setas. 2008 [consultado 1 Abr 2015]. Disponible en: <http://www.slideshare.net/Albatrellus/intoxicaciones-por-setas>
217. Lincoff G, Mitchel DH. Toxic and hallucinogenic mushroom poisoning: A handbook for physicians and mushroom hunters. New York: Van Nostrand Reinhold Co; 1977.
218. Alder AE. Erkennung und Behandlung von Pilzvergiftungen. *Dtsch Med Wochenschr.* 1961;86:1121–7.
219. Hruby K, Lenz K, Moser CD, Bachner J, Korninger C. Knollenblätterpilzvergiftungen in Österreich. *Wien Klin Wochenschr.* 1979;91:509–13.
220. Assisi F, Balestreri S, Galli R. Funghi velenosi. Tossicologia, speciografia, prevenzione. Milano: Dalla Natura; 2008.
221. Wieland T. Peptides of poisonous Amanita mushrooms. New York, NY: Springer-Verlag; 1986.
222. Staack RF, Maurer HH. New Bühlmann ELISA for determination of Amanitins in urine - Are there false positive results due to interferences with urine matrix, drugs or their metabolites? *Toxichem Krimtech.* 2000;68:68–71.