

Intoxication volontaire par *Cortinarius orellanus*: intérêt d'un traitement précoce original après dosage de l'orellanine dans les milieux biologiques et tissulaires

Nadine Delpech¹, Sylvie Rapior², P. Donnadiou³, A.P. Cozette³, J.P. Ortiz³, G. Huchard¹

¹ Laboratoire de Biochimie-Immunochimie, Centre Hospitalier Général, Perpignan

² Laboratoire de Botanique, Phytochimie et Mycologie, Faculté de Pharmacie, Montpellier

³ Service de Néphrologie-Hémodialyse, Centre Hospitalier Général, Perpignan

Résumé:

L'empoisonnement par les Cortinaires est principalement dû à l'orellanine ou di-N-oxyde-1, 1'-tétrahydroxy-3, 3', 4, 4'-bipyridine 2, 2'. Cette intoxication est caractérisée par une insuffisance rénale aiguë pouvant entraîner la mort en l'absence de traitement approprié. Nous avons récemment rapporté, pour la première fois, une technique de dosage de l'orellanine, par chromatographie bidimensionnelle sur couche mince, fondée sur sa propriété de photodécomposition en orelline. L'orellanine plasmatique et tissulaire, au niveau de deux ponctions biopsies rénales prélevées à 6 mois d'intervalle, a été dosée chez une jeune femme ayant ingéré volontairement deux carpophores de *Cortinarius orellanus* (Fr.) Fr. Un traitement original a été mis en œuvre basé sur l'hémodialyse couplée à l'hémodialyse suivie d'une plasmaphérese associée à une administration d'acides aminés et de diltiazem. Ces résultats indiquent qu'il est maintenant possible de faire un diagnostic précis de l'intoxication de type orellanien.

Mots clés: Intoxication – Orellanine – *Cortinarius orellanus* – Dosages biologiques et tissulaires – Néphrotoxicité – Traitement.

Summary:

Cortinarius poisoning is generally caused by orellanine, a hydroxy bipyridine N, N-dioxide. This intoxication is characterized by acute nephritis which can lead to death without treatment. We reported a highly sensitive and simple fluorimetric technique to analyse orellanine by thin-layer chromatography on the basis of its characteristic photodecomposition into orelline. Using this procedure, we detected and assayed orellanine for the first time in plasma and renal biopsies of a woman who had deliberately ingested two fruit-bodies of *Cortinarius orellanus*. An early original treatment was carried out based on hemodialysis, combination plasmapheresis-hemoperfusion, and amino acids and diltiazem administration. These results indicate that it is now possible to make a precise diagnosis of orellanine poisoning.

Key words: Intoxication – Orellanine – *Cortinarius orellanus* – Assay – Nephrotoxicity – Treatment.

INTRODUCTION

De nombreux cas d'empoisonnements involontaires par les Cortinaires ont été décrits en Europe depuis 1952 (3, 5, 6, 8, 12, 14, 15, 20, 21, 22). L'intoxication révélée par les Cortinaires est caractérisée par une insuffisance rénale aiguë qui peut conduire à la mort en l'absence de traitement approprié. Les premiers symptômes apparaissent après un long temps de latence (deux jours à deux semaines). Le tableau clinique associe des signes gastro-intestinaux puis une soif intense. A une polyurie initiale succède rapidement une

oligoanurie nécessitant une épuration extra-rénale.

Les Cortinaires concernés par une telle intoxication appartiennent au genre *Cortinarius* Fr., sous-genre *Leprocybe* Mos., section *Orellani*: *Cortinarius orellanus* (Fr.) Fr., *Cortinarius speciosissimus* Kühn. et Romagn. et *Cortinarius orellanoides* Hry. sont les espèces les plus communes (17). La principale toxine est l'orellanine ou di-N-oxyde-1, 1'-tétrahydroxy-3, 3', 4, 4'-bipyridine 2, 2' (16, 19). C'est une molécule photodégradable qui est désoxydée, sous la lumière ultra-violet (UV) à 366 nm, pour donner une molécule

stable et non toxique, nommée orelline (2). Selon certains auteurs (23, 24), la néphrotoxicité des Cortinaires serait due à la présence simultanée de molécules de structure polypeptidique appelées improprement cortinarines A et B, nom déjà attribué en 1980 à un pigment anthraquinonique (7). Les cortinarines A et B ne semblent exister que chez *C. orellanus*, *C. speciosissimus* et *C. orellanoides*. Toutefois, à ce jour, les cortinarines n'ont pas fait l'objet d'une étude pharmacologique sérieuse.

Récemment, nous avons confirmé un cas d'intoxication de type orellanien après

ingestion délibérée de *C. orellanus* par dosage de l'orellanine dans le plasma et deux ponctions biopsies rénales (PBR) d'une jeune femme à tendance dépressive (1, 17, 18). Ce travail décrit la première intoxication volontaire de type orellanien et le traitement original mis en œuvre et rapporte la première méthode de détection et de dosage de l'orellanine dans les tissus biologiques.

OBSERVATION CLINIQUE

En novembre 1987, dix jours après une ingestion volontaire de deux carpophores de *C. orellanus* (environ 20 g de champignon à l'état frais), une jeune femme âgée de 31 ans est hospitalisée pour une insuffisance rénale aiguë (créatinine plasmatique: 1100 $\mu\text{mol/l}$) sans symptomatologie clinique majeure.

Le traitement symptomatique original a consisté en 6 séances d'hémodialyse/hémo perfusion sur charbon (Dialaid 3000) intercalées d'une séance de plasmaphérese couplée à une plasma-épuration sur résine Amberlite XAD-4 (volume = 3,6 l sur 2 h).

Dès l'admission, le traitement médicamenteux a consisté en l'apport par pousse-seringue automatique de furosémide (500 mg/24 h), de dopamine (250 mg/24 h), de diltiazem (75 mg/24 h) et de vitamine C *per os* (1000 mg/24 h). Le traitement est répété durant 5 jours sauf le diltiazem qui est maintenu pendant 9 jours. Du 11^e au 19^e jour après l'ingestion, la patiente est traitée par une perfusion d'acides aminés (Protinutril[®], Laboratoires Roger Bellon, France, 500 ml/24 h) et administration *per os* d'acides aminés (Kétostéril[®], Laboratoires Frésenius, R.F.A., 4 comprimés 3 \times /j).

Au cours des premiers jours d'hospitalisation, la créatinine plasmatique évolue en fonction des hémodialyses entre 1100 et 500 $\mu\text{mol/l}$. A partir de J15, celle-ci se maintient sans épuration à environ 350 $\mu\text{mol/l}$ et la clearance de la créatinine varie entre 10 et 20 ml/mn. A J16, la combinaison plasmaphérese-hémo perfusion coïncide avec d'une part, une amélioration sensible de la créatinine plasmatique dont la valeur oscille entre 350 et 250 $\mu\text{mol/l}$ et d'autre part, la reprise d'une diurèse efficace. A partir de J19, les épurations extra-rénales sont suspendues tout en maintenant l'administration *per os* d'acides aminés.

Lors de son admission et durant le traitement, la patiente ne présente ni fièvre (37°C) ni atteinte hépatique (TGP:

5 et 8 UI/l; TGO: 12 et 15 UI/l). Une valeur subnormale de la LDH peut s'expliquer par une sécrétion d'origine rénale (370, 358 et 360 UI/l).

Deux ponctions biopsies rénales sont prélevées sous repérage tomodensitométrique 13 jours (PBR 13) et six mois (PBR 180) après l'ingestion de *C. orellanus*.

• La PBR 13 révèle: 1) une prédominance des lésions nécrotiques ou d'aplatissement tubulaire potentiellement réversibles avec une fibrose interstitielle concernant environ 1/3 du parenchyme examiné; 2) une simple congestion glomérulaire avec au maximum une discrète hypertrophie mésangiale; 3) des infiltrats inflammatoires interstitiels minimes.

• L'étude par microscopie électronique de la PBR 180 confirme une forte atteinte interstitielle avec majoration conjonctive et des infiltrats cellulaires diffus. Les tubes contenus dans ces tissus sont également lésés et une hypertrophie mésangiale glomérulaire est toujours présente. Il s'agit d'une néphropathie interstitielle chronique au niveau cicatriciel.

DOSAGES DE L'ORELLANINE

L'orellanine et ses métabolites de photodécomposition contenus dans les différents fluides biologiques sont purifiés par passage sur résine Amberlite XAD-4 selon le protocole décrit (17, 18). La mise en évidence et le dosage de l'orellanine dans les matériels biologiques sont réalisés par chromatographie bidimensionnelle sur couche mince, des extraits irradiés sous la lumière UV, comparativement à une solution témoin d'orellanine traitée dans les mêmes conditions. L'orellanine est dosée, sous forme d'orelline (produit terminal de sa photodécomposition) par spectrofluorimétrie directe sur les chromatoplaques. La limite de détection de cette méthode simple et sensible de dosage de l'orellanine dans les milieux plasmatique et tissulaire est de 10 ng. La recherche de l'orellanine a été entreprise sur 6 échantillons de plasma, 2 d'urines, 2 de dialysats, 5 de résines d'hémodialyse et de plasmaphérese et sur les 2 PBR.

Le plasma prélevé avant toute hémodialyse, 10 jours après l'ingestion de *C. orellanus*, révèle la présence d'orellanine (6 mg/l = 0,02 mmol/l). Cette valeur correspond à une quantité résiduelle importante car la teneur moyenne de l'orellanine est de 1,5 à 2 g/100 g de champignon sec. Dans un carpophore sec de poids moyen de 1 g, la teneur en orellanine est de 15 mg (avec des doses extrêmes de 10 à

20 mg). L'orellanine n'est plus décelée dans les plasmas prélevés les jours suivants et épurés par 1 ou 2 séances d'hémodialyse journalières. Nous n'avons jamais retrouvé d'orellanine ou d'orelline dans les urines, les dialysats, les résines de dialyse et de plasmaphérese. De grandes quantités (de l'ordre de 50 mg/l) de sulfoxyde d'une cortinarine (sans précision de sa nature) ont été trouvées dans les urines du 1^{er} jour d'hospitalisation (Tebbett, communication personnelle). Ces résultats doivent être envisagés avec prudence dans la mesure où la quantité trouvée semble incompatible avec la quantité contenue dans les carpophores (< 1% du poids de matière sèche) (23).

Dans le cas de la PBR 13, nous retrouvons de l'orellanine et de l'orelline en quantité importante et des produits de photodécomposition à l'état de traces. Le taux des toxines en équivalence d'orellanine est de 7 μg (= 0,02 μmol) pour 25 mm³ de PBR. La PBR 180 révèle uniquement de l'orelline, produit terminal de la photodécomposition de l'orellanine dont la teneur en équivalence d'orellanine est de 24 μg (= 0,09 μmol) pour 8 mm³ de PBR.

Ces résultats traduisent une fixation importante de l'orellanine et de ses produits de photodécomposition au niveau des cellules rénales. De plus, 6 mois après l'ingestion de *C. orellanus*, l'orelline étant décelée en forte quantité au niveau du rein, l'élimination rénale de cette molécule est très lente ce qui confirme l'étude par microscopie électronique à savoir une fibrose interstitielle évolutive intense.

COMMENTAIRE

Depuis 1952, de nombreux cas d'intoxications par *C. orellanus*, *c. speciosissimus* et *C. orellanoides* ont été décrits en Europe. Ce n'est qu'en 1975 (12) et en 1981 (3) que deux équipes, respectivement alsacienne et bretonne, rapportent les deux premières observations françaises d'intoxication par *C. orellanus*. En septembre 1987, quinze cas d'insuffisance rénale aiguë consécutive à une intoxication accidentelle par *C. orellanoides* ont été observés en Bretagne lors d'un exercice de survie (5, 15).

Les tableaux clinique et biologique de l'intoxication de type orellanien sont caractérisés par une longue durée d'incubation (2 à 17 jours) souvent dépourvue de signes d'appel. Elle aboutit sans traitement à une atteinte rénale sévère au niveau tubulo-interstitiel sans toutefois

d'atteinte glomérulaire (6, 12). Elle conduit fréquemment à la dialyse et dans certains cas à la transplantation rénale (14, 21).

Le pronostic de cette intoxication grave et quelquefois mortelle dépend de plusieurs facteurs:

1. Le temps de latence entre l'ingestion du champignon et l'apparition de l'insuffisance rénale aiguë qui est le plus long décrit en Mycotoxicologie.
2. La susceptibilité individuelle de l'intoxiqué (enfant, personne âgée, antécédents médicaux).
3. La nature du traitement avec l'action indirecte de l'hémodialyse et de la plasmaphérese (4, 9, 13), par élimination des toxines.

L'administration concomitante d'acides aminés et de diltiazem paraît avoir contribué à la protection de la fonction rénale.

Selon les données expérimentales de Toback (25), l'administration d'acides aminés semblent agir directement sur le rein en augmentant la synthèse des phospholipides et en activant la régénération des membranes cellulaires ce qui limite la durée de l'insuffisance rénale après nécrose tubulaire aiguë. De plus, les effets vasodilatateurs et anti-ischémiques du diltiazem sont utilisés comme traitement protecteur théorique dans les insuffisances rénales aiguës (26, 27). Par ailleurs, l'un d'entre nous (G.H.) emploie le diltiazem lors d'insuffisance rénale aiguë non consécutive à une transplantation rénale.

Chez la patiente, le succès du traitement semble avoir été les associations hémodialyse/hémodépuration et plasma-

phérese/plasma-épuration avec l'administration simultanée d'acides aminés et de diltiazem conduisant 6 mois après l'ingestion, à une créatinine plasmatique de 209 $\mu\text{mol/l}$. En mai 1989, un an et demi après l'ingestion de *C. orellanus*, la créatinine plasmatique se situe à 181 $\mu\text{mol/l}$ avec une urémie à 8,4 mmol/l.

Des quantités résiduelles importantes d'orellanine ont été retrouvées dans le plasma prélevé le premier jour d'hospitalisation, 10 jours après l'ingestion du champignon. Celles-ci pourraient s'expliquer par un phénomène de relargage destiné à une désintoxication de l'organisme comme l'ont déjà montré certains auteurs (10, 11). De plus, la rémanence tissulaire des dérivés de dégradation de l'orellanine au niveau rénal, nous conduit à penser qu'elle est véritablement la toxine responsable de l'intoxication de type orellanien et qu'il est difficile de prévoir l'atteinte rénale et son évolution.

CONCLUSION

L'originalité de notre travail est de relater le premier cas d'intoxication de type orellanien par ingestion volontaire de deux carpophores de *C. orellanus* et d'avoir pu déceler et doser pour la première fois, l'orellanine dans les milieux biologiques et tissulaires de l'intoxiquée.

Les résultats cliniques et biologiques observés justifient une épuration extrarénale précoce, dès les premiers symptômes (soif et signes gastro-intestinaux) sans attendre l'insuffisance rénale aiguë sur-

tout lorsqu'il ne subsiste aucun doute sur la nature du champignon ingéré. Dès maintenant, il paraît raisonnable, lors d'une intoxication de type orellanien, de faire bénéficier les intoxiqués d'un traitement précoce basé sur:

- l'épuration couplée à une plasmaphérese,
- l'administration d'acides aminés et de diltiazem.

Ce traitement semble avoir limité une insuffisance rénale chronique évolutive stabilisée, deux ans et demi après l'ingestion de *C. orellanus*, à urée: 8 mmol/l, créatinine plasmatique: 188 $\mu\text{mol/l}$. Cette observation conforte les techniques d'épuration telles l'hémodépuration sur charbon et la plasma-épuration qui ont certainement amélioré le pronostic de cette patiente.

REMERCIEMENTS

Nous exprimons nos sincères remerciements à M. le Professeur C. Mion (C.H.U. Lapeyronie, Montpellier) pour ses précieux conseils dans la rédaction de ce mémoire. Nous remercions également le Dr A. Modesto (INSERM U133, Toulouse) pour sa collaboration dans le diagnostic anatomo-pathologique.

Adresse de correspondance

Dr Nadine Delpech
Laboratoire Biochimie-Immunochimie
Centre Hospitalier Général, B.P. 4045
F-66042 Perpignan Cedex

RÉFÉRENCES

1. Andary C., Rapior S., Delpech N., Huchard G.: Laboratory confirmation of *Cortinarius* poisoning. *Lancet* 1: 213, 1989.
2. Andary C., Rapior S., Fruchier A., Privat G.: Cortinaires de la section *Orellani* — Photodécomposition et hypothèse de la phototoxicité de l'orellanine. *Cryptogamie Mycol.* 7: 189-200, 1986.
3. Brousse A., Hervé J.P., Leguy P., Cledes J., Leroy J.P.: L'intoxication par champignons de type *Cortinarius orellanus* — Une cause rare d'insuffisance rénale. *Nouv. Presse Méd.* 10: 1940, 1981.
4. Busnach G., Dal Col A., Perrino M.L., Surian M., Rovati C. et coll.: Plasma exchange in acute renal failure by *Cortinarius speciosissimus*. *Int. J. Artif. Organs* 6: 73-74, 1983.
5. Chevet D., Bousser J., Thomas R., Ramée M.P., Guidicelli C. et coll.: Quinze cas d'insuffisance rénale aiguë liées à l'ingestion de cortinaires. *Néphrologie* 9: 38, 1988.
6. Favre H., Leski M., Christeler P., Vollenweider E., Chatelanat F.: Le *Cortinarius orellanus*, un champignon toxique provoquant une insuffisance rénale aiguë retardée. *Schweiz. Med. Wschr.* 106: 1097-1102, 1976.
7. Gill M., Steglich W.: Pigments of Fungi (Macromycètes). In: *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, Herz W., Grisebach H., Kirby G.W., Tamm C. éds, p. 167, Wien, New York, Springer-Verlag, 1987.
8. Grzymala S.: Etude clinique des intoxications par les champignons du genre *Cortinarius orellanus* Fr. *Bull. Méd. Lég. Toxicol. Méd.* 8: 60-70, 1965.
9. Heath A., Delin K., Edén E., Martensson E., Selander D. et coll.: Hemoperfusion with Amberlite Resin in the Treatment of Self Poisoning. *Acta Med. Scand.* 207: 455-460, 1980.
10. Karasawa A., Kubo K., Shuto K., Oka T., Nakamizo N.: Antihypertensive effects of the new calcium antagonist benidipine. *Arzneimittelforschung* 38: 1684-1690, 1988.
11. MacCoy L.E., Elliott L.A., Lucas C.E., Ledgerwood A.M.: Regenerative responses to exchange perfusion. *Biomater. Artif. Cells Artif. Organs* 16: 575-583, 1988.
12. Marichal J.F., Triby F., Wiederkehr J.L., Carbiener R.: Insuffisance rénale chronique après intoxication par champignons de type *Cortinarius orellanus*. *Nouv. Presse Méd.* 6: 2973-2975, 1977.
13. Mulec H., Vikgren P., Nyqvist A.: Hemoperfusion (HP) with Amberlite XAD-4 resin for treatment of intoxications in a county hospital. *Artif. Organs* 5: 207, 1981.
14. Nolte S., Hufschmidt C., Steinhauer H., Rohrbach R., Kunzer W.: Terminale Niereinsuffizienz durch interstitielle Nephritis nach Pilzvergiftung durch *Cortinarius speciosissimus*. *Monatsschr. Kinderheilkd.* 135: 280-281, 1987.
15. Pats B., Durand G., Bousser J., Beauche A., Nicand E. et coll.: Toxicologie automnale lors d'un exercice de survie — A propos d'une intoxication collective par champignons de type *Cortinarius orellanoides*. *Médecine et armées* 16: 231-233, 1988.

16. Prast H., Pfaller W.: Toxic properties of the mushroom *Cortinarius orellanus* (Fries). II. Impairment of renal function in rats. *Arch. Toxicol.* 62: 89-96, 1988.
17. Rapior S.: Contribution à l'étude de *Cortinarius orellanus* (Fr.) Fr. — Chimiotaxonomie, Culture *in vitro*, Toxicité. Thèse Doctorat Etat ès Sciences Pharmaceutiques, Université Montpellier I, pp. 1-254, 1988.
18. Rapior S., Delpech N., Andary C., Huchard G.: Intoxication by *Cortinarius orellanus* — Detection and assay of orellanine in biological fluids and renal biopsies. *Mycopathol* 108: 155-161, 1989.
19. Richard J.M., Louis J., Cantin D.: Nephrotoxicity of orellanine, a toxin from the mushroom *Cortinarius orellanus*. *Arch. Toxicol.* 62: 242-245, 1988.
20. Schumacher T.K., Hoiland K.: Toxic *Cortinarius* spp. and *Cortinarius* poisoning. *Nature* 3: 135-140, 1978.
21. Short A.I.K., Watling R., Mac Donald M.K., Robson J.S.: Poisoning by *Cortinarius speciosissimus*. *Lancet* 2: 942-944, 1980.
22. Soresina P., Leoni G.: Il *Cortinarius orellanus* ed. i suoi effetti tossici. *Mic. Ital.* 3: 9-15, 1978.
23. Tebbett I.R., Caddy R.: Mushroom toxins of the genus *Cortinarius*. *Experientia* 40: 441-446, 1984.
24. Tebbett I.R., Kidd C.B.M., Caddy R., Robertson J., Tilstone W.J.: Toxicity of *Cortinarius* species. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 81: 636-638, 1983.
25. Toback F.G.: Amino acid enhancement of renal regeneration after acute tubular necrosis. *Kidney Int.* 12: 193-198, 1977.
26. Wagner K., Neumayer H.H.: Prevention of delayed graft function in cadaver kidney transplants by diltiazem. *Lancet* 2: 1355-1356, 1985.
27. Wagner K., Albrecht S., Neumayer H.H.: Prevention of delayed graft function in cadaveric Kidney Transplantation by a calcium antagonist. Preliminary results of two prospective randomized trials. *Transplant. Proc.* 18: 510-515, 1986.