

[4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局.食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验:GB 4789. 10—2016 [S]. 北京:中国标准出版社, 2016.

[5] 中华人民共和国卫生部.食品安全国家标准 食品微生物学检验 志贺氏菌检验:GB 4789. 5—2012 [S].北京:中国标准出版社, 2012.

[6] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.食品安全国家标准 食品添加剂使用标准:GB 2760—2014 [S].北京:中国标准出版社,2014.

[7] 刘海龙.脱氢醋酸钠在动物性组织中残留消除规律的研究 [D]. 扬州: 扬州大学, 2014.

[8] 叶银枝.脱氢醋酸钠在食品中的应用[J].中国食品添加剂, 2002 (3): 64-66.

[9] 杜玉峰.脱氢乙酸毒性及在鸡肉组织中消除规律的研究 [D]. 扬州: 扬州大学, 2009.

[10] SHIDEMAN F E, WOODS L A, SEEVERS M H. Dehydroacetic acid (DHA). Detoxication and effects on renal function [J]. J Pharmacol Exp Ther,1950, 99(1): 98-111.

食物中毒

浙江省长兴县一起误食毒蘑菇中毒事件调查

宿瑶瑶¹,陈彬²,许辉¹,施长苗¹,罗康¹
(1.长兴县疾病预防控制中心,浙江 湖州 313100; 2.中国林业科学研究院
热带林业研究所,广东 广州 510520)

摘要:**目的** 调查分析浙江省长兴县一起毒蘑菇中毒事件中毒蘑菇的种类,分析事件发生原因,总结调查处置经验,为中毒患者的救治和中毒的预防提供借鉴。**方法** 对中毒事件开展现场流行病学调查,对毒蘑菇样品进行形态学鉴定和分子系统学鉴定。**结果** 本次毒蘑菇中毒事件共发病3人,其中1例重症,2例轻症,罹患率为100%,主要临床表现为恶心、呕吐、腹泻等症状,其中1例经短暂“假愈期”后出现严重横纹肌溶解中毒症状,血清肌酸激酶(CK)最高达318 200 U/L。毒蘑菇样品经形态学及分子系统学鉴定为亚稀褶红菇。**结论** 本次事件是一起因误食亚稀褶红菇引起的毒蘑菇中毒事件。加强宣传教育,提升民众防范意识,提高医疗机构的诊断救治能力是预防毒蘑菇中毒的关键。

关键词:毒蘑菇;亚稀褶红菇;分子系统学鉴定;食物中毒;现场流行病学调查
中图分类号:R155 **文献标识码:**A **文章编号:**1004- 8456(2019)05- 0493- 05
DOI:10. 13590/j.cjfh.2019. 05. 019

Investigation on poisoning by mistaken eating of poisonous mushroom
in Changxing Country, Zhejiang Province

SU Yaoyao¹, CHEN Bin², XU Hui¹, SHI Changmiao¹, LUO Kang¹
(1. Changxing County Center for Disease Control and Prevention, Zhejiang Huzhou 313100, China;
2. Research Institute of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Guangdong
Guangzhou 510520, China)

Abstract: Objective To investigate the wild mushroom species causing a food poisoning in Changxing County, Zhejiang Province, analyze the causes of the incident and summarize the experience of investigation, purposed to provide references for prevention and proper treatment. **Methods** The epidemiological investigation, morphological identification and phylogenetic identification were used to analyze the poisoning event. **Results** Epidemiological investigation found that three patients were poisoned due to mushrooms picked by themselves, among which 1 case was severe and 2 cases were mild, and the attack rate was 100%. The main clinical manifestations were nausea, vomiting and diarrhea. One patient developed severe rhabdomyolysis poisoning after a short pseudo-recovery period. The highest level of serum creatine kinase (CK) was 318 200 U/L. The mushroom samples were identified as *Russula subnigricans* by morphological

identification and phylogenetic identification. **Conclusion** This incident was a case of mushroom poisoning caused by accidental ingestion of *Russula subnigricans*. The key to prevent poisonous mushroom poisoning is to carry out publicity and education, enhance people's awareness of prevention and improve the ability of medical institutions to diagnose and treat poisonous mushrooms.

Key words: Poisonous mushroom; *Russula subnigricans*; phylogenetic identification; food poisoning; field epidemiological survey

蘑菇中毒是我国突出的公共卫生问题^[1],具有病死率高、地域性强、发生时间集中、毒物谱相对集中和家庭聚集性等明显特征^[2]。2004—2014年全国毒蘑菇中毒病死率高达21.24%,死亡人数占食物中毒总死亡人数的35.57%^[3],而2010—2016年浙江省报告的毒蘑菇中毒暴发事件中,死亡人数占食物中毒总死亡人数的比例高达76.5%,已成为浙江省造成食源性疾病死亡的主要原因^[4]。

亚稀褶红菇(*Russula subnigricans*),又称作亚稀褶黑菇、亚黑红菇等^[5],隶属于真菌界、担子菌门、伞菌纲、红菇目、红菇科、红菇属^[6],每年夏秋季7月上旬至9月下旬生长于马尾松与栲树等山毛榉科植物的混交林中,分布于我国华东、华中、西南和华南地区,近年来在湖南、湖北、浙江、贵州、云南等省份均有中毒事件发生^[7],已成为我国剧毒蘑菇中毒的主要种类之一^[8]。2018年8月8日,浙江省长兴县发生1起3人误食亚稀褶红菇引起的毒蘑菇中毒事件,本研究采用形态学与分子系统学方法对毒蘑菇进行鉴定,并对中毒患者的诊断救治经验及事件预防等展开分析。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

聚合酶链式反应(PCR)仪(德国Eppendorf),JP ZF-258凝胶成像系统(上海嘉鹏科技有限公司),离心机。

三甲基十六烷基溴化铵(CTAB),氯仿,异戊醇,2×*Taq* PCR Master Mix(上海生工生物工程股份有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 流行病学调查

2018年8月8日,浙江省长兴县洪桥镇横山桥村村民廖某及其妻子、儿子3人在家中进食自采蘑菇,并发生中毒事件。2018年8月9日,浙江省长兴县疾病预防控制中心工作人员开展现场流行病学调查,包括事件核实,与接诊医生和中毒患者访谈,了解中毒患者的主要临床表现、病程和诊治情况,摘录相关病例资料,重点调查可疑蘑菇采集、加工、进食情况。

1.2.2 蘑菇形态学鉴定

由于患者采摘的野生蘑菇已全部烹调,且无食剩,调查人员于8月12日与廖某妻子前往弁山,在与8月8日相同的采集地点采集到疑似毒蘑菇样品,并经中毒患者确认。调查人员将疑似毒蘑菇样品照片发送至浙江省疾病预防控制中心与中国疾病预防控制中心,经专家协助辨识,初步判断为亚稀褶红菇。随后将采集的疑似毒蘑菇样品在45℃电热恒温鼓风干燥箱内彻底干燥,寄送至中国林业科学研究院热带林业研究所进行形态学鉴定,主要包括宏观形态特征和显微结构观察。

1.2.3 蘑菇的分子系统学鉴定

将采集的疑似毒蘑菇样品干燥后寄送至中国林业科学研究院热带林业研究所进行分子系统学鉴定。采用CTAB改进方法^[9]对蘑菇样品进行总DNA提取,利用PCR技术对内转录间隔区(ITS)片段进行扩增和测序,并进行系统发育学分析。分子系统学鉴定使用试剂盒进行PCR扩增,反应体系(25 μl)包括12.5 μl Master Mix、1 μl DNA模板、上下游引物各1 μl、2 μl MgCl₂和7.5 μl ddH₂O。扩增引物为ITS1(TCCGTAGGTGAACCTGCGG)和ITS4(TCCTCCGCTTATTGATATGC)^[10]。扩增程序:94℃预变性5 min;94℃变性30 s,50℃退火30 s,72℃延伸10 min,35个循环;最后4℃保存。取3 μl PCR产物进行琼脂糖凝胶电泳,凝胶电泳结束后,在凝胶成像仪下拍照并记录结果。将电泳条带单一明亮、片段大小约650 bp的PCR产物送生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。DNA序列用MAFFT 7.0进行比对^[11],使用BioEdit软件将序列进一步手工校对^[12]。系统发育树构建采用最大简约法,使用RAxML v0.6.0软件^[13]。最大似然法分析中,所有参数均采用默认值。

2 结果

2.1 基本情况

2018年8月8日清晨,浙江省长兴县洪桥镇横山桥村村民廖某(47岁)与妻子(45岁)去弁山采寻灵芝,廖某因发现林下有些野生蘑菇与其在湖南老家经常采食的蘑菇相似,遂将其采摘回家烹调。中

午 11 时,廖某及其妻子、儿子(24 岁)、儿媳(24 岁)一家四口在家中共用午餐,午餐包括蘑菇炒大蒜、丝瓜蛋汤、红烧排骨、凉拌黄瓜、蒸米饭,食材除蘑菇外均为妻子在当地菜市场购买。除儿媳外,其余 3 人均进食蘑菇炒大蒜。当日 12 时起,廖某及其妻子、儿子相继发病,出现恶心、呕吐、腹泻等症状,当日均自行缓解,儿媳无任何症状。次日廖某出现头晕、乏力、嗜睡等症状,家人将其送至湖州市第一人

民医院抢救,廖某妻子及儿子未就医。中毒蘑菇确定为亚稀褶红菇后,调查人员第一时间将中国疾病预防控制中心与浙江省疾病预防控制中心专家反馈的该类毒蘑菇的危害类型、中毒特点、救治建议提供给医院,协助医院及时开展针对性救治。

2.2 临床表现及救治

3 例病例均在食用野生蘑菇后 1~2 h 内发病,罹患率 100%。具体发病及转归情况见表 1。

表 1 中毒者进食后发病情况及转归

Table 1 Incidence and return of poisoned patients after eating						
中毒者	进食时间	进食蘑菇量/片	发病时间	潜伏期/h	主要症状、体征	诊治及转归
廖某	8 月 8 日 11 时	14~15	8 月 8 日 12 时	1.0	呕吐、腹泻、横纹肌溶解 伴多脏器损伤	经急诊、重症监护、肾内科 抢救治疗后出院,预后一般
廖某妻子	8 月 8 日 11 时	6	8 月 8 日 13 时	2.0	恶心	未就医
廖某儿子	8 月 8 日 11 时	1	8 月 8 日 12 时 30 分	1.5	呕吐	未就医

注:蘑菇每片约拇指大小

重症病例廖某首发症状主要为呕吐,8 月 8 日呕吐 1 次、腹泻 3 次后症状缓解,8 月 9 日 5 时呕吐 1 次并出现头晕、乏力、嗜睡等症状,8 月 9 日 10 时入院时已出现横纹肌溶解中毒症状并伴有明显肾脏、肝脏受损,后并发凝血功能障碍、代谢性酸中毒、急性呼吸衰竭、肺部感染、急性应激性心肌病、急性心功能不全、低蛋白血症、多浆膜腔积液、中度贫血、感染性发热、多发性周围神经损害,血清肌酸激酶(CK)最高达

318 200 U/L,具体检测结果见表 2。医院急诊给予洗胃后立即收治重症监护室,期间行气管插管、血浆置换,以及保肝、保肾、抗感染、维持酸碱平衡、营养支持等对症支持治疗,后病情趋于稳定,于 8 月 20 日由重症监护室转至肾内科进行血液透析支持治疗,并于 9 月 18 日出院。出院时廖某 CK 等相关指标复查均达到或接近正常水平,但肝肾仍伴有一定程度损害表现,预后一般,病程共计 41 d。

表 2 中毒患者廖某住院期间检测结果

Table 2 Testing result of Mr. Liao during hospitalization					
检测项目	检测指标	8 月 9 日	8 月 11 日	8 月 20 日	9 月 15 日
血常规	白细胞计数/($\times 10^9$ /L)	22.7	—	24.5	5.8
	中性粒细胞比率/%	96.3	—	86.9	—
	血红蛋白/gL	136	—	84	86
	血小板计数/($\times 10^9$ /L)	147	—	177	199
血生化	CK/(U/L)	44 220	318 200	1 783	167
	CK-MB/(U/L)	1607	—	65	37.1
	ALT/(U/L)	103	—	175	24
	AST/(U/L)	449	—	54	22
	LDH/(U/L)	1 982	—	1 938	333

注:CK-MB:肌酸激酶同工酶;ALT:丙氨酸氨基转移酶;AST:门冬氨酸氨基转移酶;LDH:乳酸脱氢酶;—表示未检测;8 月 11 日 CK 检测值为病程中检测出的最高值

2.3 形态学鉴定

通过对毒蘑菇样品的宏观形态和显微观察,鉴定为亚稀褶红菇(*Russula subnigricans*),见图 1。

宏观形态:子实体中等至大型。菌盖初扁半球形,后平展至中部下凹呈浅漏斗状,表面呈灰白色、浅灰色至煤灰黑色,边缘色浅而内卷,无条棱,表面干燥,无光泽,但湿时稍黏;菌肉白色,较厚,近柄处有分叉现象,受伤处变红而不变黑,无明显气味。菌褶白色,直生至近延生,伤后变红色,厚而脆,稍稀疏,不等长,不分叉,褶间具横脉,褶缘 5~7 片/cm,浅黄白色至浅奶油色,小菌褶多;菌柄偏生,较粗短,圆柱型,污白色、浅灰白色至灰黑色,较



图 1 亚稀褶红菇子实体照片

Figure 1 Basidiomata of the *Russula subnigricans*

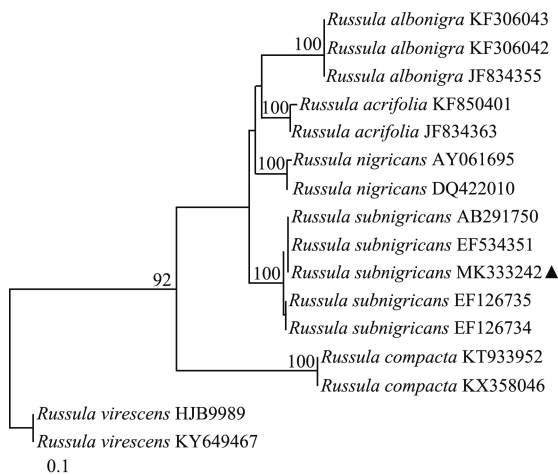
盖色浅,内部松软。

显微结构:担子棒状,具 2~4 个小梗,基部无锁状联合;担孢子球形、近球形至宽椭圆形,部分为椭

圆形,无色,表面疣突圆柱形,高 $0.4 \sim 1.5 \mu\text{m}$,疣突间分散且无连线;脐上区淀粉质点不明显, $(6.2 \sim 8.8) \mu\text{m} \times (5.0 \sim 8.6) \mu\text{m}$ 。

2.4 分子系统学鉴定

采集的蘑菇样品利用 PCR 技术扩增 ITS 片段并测序,进行系统发育学分析,构建系统发育树:共 16 个单元,610 个特征位点,一个单元是本研究新产生的序列 (GenBank No.MK333242),其余 15 个单元均来自 GenBank,最大似然法得到 1 个 ML 系统进化树,结果表明样品与亚稀褶红菇聚类同一分支,并获得极高的支持率 (见图 2),鉴定该样品为亚稀褶红菇。



注:图中仅列出支持率高于70%的序列;▲为检测的样品序列;*Russula albonigra* 为黑白红菇;*Russula acrifolia* 为辣褶红菇;
Russula nigricans 为稀褶红菇;*Russula compacta* 为密集红菇;
Russula virescens 为变绿红菇

图2 基于 ITS 序列构建的亚稀褶红菇系统发育树
Figure 2 Best RAxML phylogenetic relation tree based on the ITS dataset

3 讨论

根据调查了解的情况,分析此次事件发生误采误食的原因有两点:一是事发家庭对食用野生蘑菇引起中毒的严重性认识不足。中毒事件中的廖某为湖南人,其家乡有采食野生蘑菇的习俗,在浙江省长兴县定居后,其与妻子有去弁山采寻灵芝的习惯,因发现有些野生蘑菇与其在湖南老家采食的蘑菇极为相似,故采摘回家烹调食用,最终导致中毒事件发生。二是导致此次事件的亚稀褶红菇与某些地区老百姓广泛采集食用的“火炭菌”,即烟色红菇(*Russula adusta*)、稀褶红菇(*Russula nigricans*)、密褶红菇(*Russula densifolia*)形态上极为相似,仅菌褶的形态有所差别,且在野外这三种蘑菇可以生长在同一环境内,采集者很容易将亚稀褶红菇误采误食^[5]。

亚稀褶红菇是红菇属中的剧毒蘑菇^[14],其中毒最有特征性的临床表现为横纹肌溶解症^[15]。误食后潜伏期短,起初表现为恶心、呕吐、腹痛、腹泻等现象,24 h 后出现横纹肌溶解症状,生化指标表现为 CK 急剧上升,最高可达十几万单位以上,严重者可导致多器官功能衰竭死亡^[7]。2004—2011 年 22 个省份通过突发公共卫生事件报告管理信息系统报告毒蘑菇中毒事件^[16]显示,稀褶红菇、毒红菇、亚稀褶红菇中毒事件死亡人数所占比例(16.4%)仅次于致病白毒伞(44.1%)。MATSUURA 等^[17]以小鼠毒性为筛选模型,开展了亚稀褶红菇的毒素分离,认为其致死毒素为环丙-2-烯羧酸化合物,该毒素能引起横纹肌溶解,对小鼠的致死剂量为 2.5 mg/kg。2013 年 7 月贵州省石阡县发生一起亚稀褶红菇引起的 7 人发病、1 人死亡的中毒事件,7 位患者的 CK 平均为 2 063 U/L(范围为 126~66 950 U/L)^[7]。2014 年 8 月浙江省德清县发生一起 5 人食用亚稀褶红菇引起的中毒事件,其中 2 例重症病例 CK 分别高达 84 824 和 140 259 U/L,后因多器官衰竭先后死亡^[7]。本次事件中 2 例轻症病例出现胃肠道症状,1 例重症病例由胃肠道症状进行性发展为横纹肌溶解中毒症状,并伴多脏器损害,同时 CK 急剧升高,临床表现与文献报道相符。

近年来,蘑菇中毒事件频频发生,而农村家庭是主要的发生场所,发生原因主要为误采误食^[3]。为防止此类事件再次发生,建议各部门在广泛开展毒蘑菇中毒防治宣传的基础上,在高发季节对农村地区重点开展有针对性的宣传教育,如利用广播、电视、微信等平台发布毒蘑菇中毒防治知识,利用流动宣传车、张贴宣传标语、发放宣传画册等方式,开展进山区、进农村、进家庭的宣传教育。宣传内容应简单通俗,告诫公众预防毒蘑菇中毒一定要做到不采、不食、不买、不卖,一旦发生毒蘑菇中毒,建议尽快就医,尽早采用催吐、洗胃、导泻、灌肠等方法,迅速排除毒素。同时加强医疗机构及临床医务人员对毒蘑菇中毒诊治的认识,做到早发现、早诊断、早治疗是降低毒蘑菇中毒病死率的关键^[18]。

参考文献

- [1] 孙承业. 蘑菇中毒防治工作亟需加强[J]. 中华急诊医学杂志, 2016, 25(8): 981-984.
- [2] 周亚娟, 俞红, 朱姝, 等. 一起剧毒蘑菇新种假淡红鹅膏中毒事件调查研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2018, 30(5): 497-501.
- [3] 周静, 袁媛, 郎楠, 等. 中国大陆地区蘑菇中毒事件及危害分析[J]. 中华急诊医学杂志, 2016, 25(6): 724-728.
- [4] 孙亮, 陈莉莉, 廖宁波, 等. 2010—2016 年浙江省毒蘑菇中毒流行病学分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2018, 30(3): 270-274.
- [5] 李海蛟, 余成敏, 姚群梅, 等. 亚稀褶红菇中毒的物种鉴定

地理分布、中毒特征及救治[J]. 中华急诊医学杂志, 2016, 25(6): 733-738.

[6] HONGO T. Notes on Japanese larger fungi[J]. Japanese Journal of Botany, 1995, 30(3): 79.

[7] 陈作红,杨祝良,图力古尔,等.毒蘑菇识别与中毒防治[M]. 北京:科学出版社,2016:277-279.

[8] 周亚娟,王娅芳,朱姝,等.贵州省2起亚稀褶黑菇中毒事件回顾性分析报告[J].微量元素与健康研究,2016,33(6):39-41.

[9] 周玲玲,梁俊峰.大型真菌 DNA 提取方法的改进[J].广东林业科技,2011,27(1):13-16.

[10] WHITE T J, BRUNS T D, LEE S B, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics [J]. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, 1990, 18: 315-322.

[11] KATO H K, ROZE WICKI J, YAMADA K D. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization [J]. Briefings in Bioinformatics, 2017, 20(4):1160-1166.

[12] HALL T A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. [J]. Nucleicacids Symposium Series, 1999, 41: 95-98.

[13] KOZLOV A M, DARRIBA D, FLOURI T, et al. RAXML-NG: a fast, scalable, and user-friendly tool for maximum likelihood phylogenetic inference [J]. BioRxiv, 2018:447110.

[14] 陈作红. 2000 年以来有毒蘑菇研究新进展[J]. 菌物学报, 2014, 33(3):493-516.

[15] 赵群远,段宇珠,陈安宝,等.亚稀褶黑菇中毒的临床表现研究[J]. 临床急诊杂志, 2017, 18(10):792-794.

[16] 王锐,高永军,丁凡,等.中国 2004—2011 年毒蕈中毒事件分析[J]. 中国公共卫生, 2014, 30(2):158-161.

[17] MATSUURA M, SAIKAWA Y, INUI K, et al. Identification of the toxic trigger in mushroom poisoning [J]. Nat Chem Biol, 2009, 5(7):465-467.

[18] 王黎荔,林丹,高四海,等.一起误食毒蘑菇引起 6 人死亡的食物中毒调查分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2017, 29(4):505-507.

· 其他 ·

2020 年《中国媒介生物学及控制杂志》征订单

《中国媒介生物学及控制杂志》是由国家卫生健康委员会主管、中国疾病预防控制中心主办的国家级专业期刊。本刊为中国科技核心期刊(国家科技部中国科技论文统计源期刊)。已被美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ, VINITI)、中国知网(CNKI)中国期刊全文数据库、中国学术期刊综合评价数据库、中国核心期刊(遴选)数据库等收录,自 2010 年以来连续多年获得中华预防医学会系列杂志优秀期刊。

刊载的内容:媒介生物(鼠类、蚊类、蝇类、蜚蠊、蚤类、蜱类等)的分类学、生物学、生态学等;媒介生物的监测与控制技术,媒介生物的控制药剂与器械;媒介生物传染病的媒介效能、病原检测技术及预防控制技术;卫生杀虫的新技术、新方法、新成果、新产品、新信息等。

栏目设置:述评、专家论坛、论著、综述、生物学及生态学、调查研究、政策与标准、经验交流、病例报道、PCO 专栏、创卫达标等。

读者对象:适合于疾病控制、爱国卫生、植保、林保、草原保护、交通部门、灭鼠和卫生杀虫药械生产厂家及科研单位、大专院校、临床医院等各个层次专业人员的需要。

热欢迎广大专业人员订阅,欢迎投稿。对具有创新性的优秀论文开辟绿色通道,加急审稿、优先发表。本刊为国际标准 A4 开本,双月刊(逢双月 20 日出版)。刊号:CN 10-1522/R,ISSN 1003-8280。本刊由中国邮政集团公司廊坊市分公司发行,全国各地邮局订阅,邮发代号 18-265;每期定价 15 元,全年 90 元。亦可汇款到编辑部订阅(挂号费 3 元/期,全年共计 108 元)。

地址:北京昌平区昌百路 155 号(传染病所),邮编:102206,《中国媒介生物学及控制杂志》编辑部
电话/传真:010-58900731 Email: bingmei@ icdc.cn http: //www.bmsw.net.cn