

食源性疾病

云南省一起热带紫褐裸伞中毒事件调查及毒素鉴定

陈汝梅, 黄小芹, 阮燕明, 孙明月, 陈敏, 林佶

(云南省公共卫生与食品安全重点实验室 云南省疾病预防控制中心, 云南昆明 650032)

摘要:目的 对一起热带紫褐裸伞中毒事件进行快速毒素筛查和对患者临床症状及治疗进行讨论, 以期为此类事件的处置及临床救治提供参考。方法 利用超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱对中毒事件剩余的毒蘑菇进行检测, 根据流行病学调查方法, 收集病例资料, 并结合调查结果和患者的肝肾功能指标进行分析。结果 从中毒患者食用的热带紫褐裸伞中检测出裸盖菇素及毒蝇碱, 患者症状与裸盖菇素和毒蝇碱中毒症状相似, 表现为幻觉、恶心、呕吐、腹痛、腹泻等, 肝肾功能指标正常。结论 此次中毒事件是由热带紫褐裸伞中的裸盖菇素及毒蝇碱引起。

关键词:热带紫褐裸伞; 裸盖菇素; 毒蝇碱; 超高效液相色谱串联质谱; 毒蘑菇; 云南

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2024)01-0084-04

DOI: 10.13590/j.cjfh.2024.01.014

Investigation and toxin identification of a poisoning incident caused by *Gymnopilus dilepis* in Yunnan Province

CHEN Rumei, HUANG Xiaoqin, RUAN Yanming, SUN Mingyue, CHEN Min, LIN Ji

(Yunnan Provincial Key Laboratory of Public Health and Biosafety & Health Laboratory Center, Yunnan Center for Disease Control and Prevention, Yunnan Kunming 650032, China)

Abstract: Objective To provide reference for the disposition and clinical treatment of poisoning incidents, rapid toxin screening and the clinical symptoms and treatment of a case of *Gymnopilus dilepis* poisoning were conducted and discussed.

Methods Ultra-high performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry was used to detect the remaining poisonous mushroom in the contaminated food. Based on an epidemiological investigation, case data were collected. The results of the epidemiological investigation and the liver and kidney indexes of the patients were analyzed.

Results Psilocybin and muscarine were detected in the *Gymnopilus dilepis* consumed by the patients. The symptoms were similar to those of psilocybin and muscarine poisoning, which included hallucinations, nausea, vomiting, abdominal pain, and diarrhea. The liver and kidney functions were normal. **Conclusion** The poisoning event was caused by psilocybin and muscarine in *Gymnopilus dilepis*.

Key words: *Gymnopilus dilepis*; psilocybin; muscarine; ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry; poison mushroom; Yunnan

云南野生蘑菇资源丰富, 因此每年夏秋季节野生蘑菇中毒事件频发。2004—2011年毒蘑菇中毒事件报道中, 云南省报告事件数、中毒例数和死亡例数均为全国最高^[1]。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

AB Sciex 6500 Qtrap 型三重四级杆线性离子阱

质谱仪系统(美国 AB Sciex), 超高效液相色谱仪(日本岛津), 离心机(美国 Sigma), Nanopure 纯水机(美国 Barnstead)。

标准品: 裸盖菇素(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 美国 Sigma-Aldrich)、毒蝇碱(纯度 >99.9%, 美国 Sigma-Aldrich), 均购自天津阿尔塔科技有限公司; 毒蝇母(纯度 >98%, 美国 Cayman Chemical); 乙腈、甲醇、甲酸、乙酸铵均为 HPLC 级。

1.2 方法

1.2.1 流行病学调查

采用描述性流行病学调查方法对事件进行现场流行病学调查, 核实事件后到患者就餐点进行食谱调查并现场采集可疑食物, 采集到患者剩余未加工

收稿日期: 2022-10-04

作者简介: 陈汝梅 女 硕士研究生 研究方向为生物毒素与食品安全 E-mail: 344041453@qq.com

通信作者: 林佶 男 主任技师 研究方向为生物毒素与食品安全 E-mail: linji666@163.com

的野生蘑菇约 40 g 及吃剩的炒熟野生蘑菇约 50 g, 共两份样品。通过面对面访谈, 追溯患者 72 h 饮食情况和事件经过, 并向接诊医生收集患者的临床症状、诊断和治疗。

1.2.2 样品前处理

新鲜蘑菇:称取磨碎新鲜蘑菇 5.0 g, 加入甲醇 15 mL, 超声提取 20 min, 离心 10 min (10 000 r/min), 取上清液于 0.22 μm 滤膜过滤后, 用于 UPLC-MS/MS 检测。

炒熟蘑菇:称取磨碎炒熟蘑菇 5.0 g, 依次加入甲醇 15 mL、石油醚 5 mL, 涡旋混匀 5 min, 超声提取 20 min, 离心 10 min (10 000 r/min), 弃掉上层石油醚, 取剩余液体过 0.22 μm 滤膜后, 用于 UPLC-MS/MS 检测。

1.2.3 色谱条件

色谱柱: ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm), 流动相 A:0.1% 甲酸-5 mmol/L

乙酸铵水溶液, 流动相 B: 甲醇-乙腈 (20:80, V/V), 流速:0.4 mL/min, 进样量:1 μL, 柱温:40 °C。梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution procedure

时间/min	流速/(mL/min)	流动相 A/%	流动相 B/%
0.0	0.4	95	5
3.0	0.4	95	5
3.5	0.4	60	40
4.0	0.4	60	40
4.5	0.4	95	5
5.5	0.4	95	5

1.2.4 质谱条件

电离方式:ESI 正离子模式; **检测方式:**多反应监测 (Multiple reaction monitoring, MRM); **离子化电压 (IS):**5 000 V; **离子化温度 (TEMP):**450 °C; **喷雾气 (GS1):**40 psi; **辅助加热气 (GS2):**45 psi; **气帘气 (CUR):**35 psi。3 种毒素的 MRM 参数见表 2。

表 2 裸盖菇素、毒蝇碱和毒蝇母 MRM 参数

Table 2 MRM parameters of psilocybin, muscarine and muscimol

化合物	分子式	母离子 Q1/(m/z)	子离子 Q3/(m/z)	去簇电压/V	碰撞能量/eV
裸盖菇素	C ₁₂ H ₁₇ N ₂ O ₄ P	285.1	205.1 [*] /58.0	100	24/35
毒蝇碱	C ₉ H ₂₀ N ₂ O	175.1	57.1 [*] /116.1	39	25/23
毒蝇母	C ₄ H ₆ N ₂ O ₂	115.1	98.1 [*] /68.1	50	16/27

注:^{*}为定量离子 DP 和 CE

1.2.5 蘑菇形态学鉴定

菌物学专家根据患者的症状和收集到的剩余未加工的野生蘑菇形态及孢子特征, 将其与热带紫褐裸伞的形态作比对, 鉴定中毒野生蘑菇种类。

1.2.6 临床实验室检测

医院收集患者入院后的血样进行生化检测, 了解血常规、肝肾功能等情况。

2 结果

2.1 流行病学调查结果

2022 年 6 月 27 日, 王某、杨某等 14 人在野外采集野生蘑菇到当地某饭店加工食用, 当餐除蘑菇为特殊食物外, 其余食物无异常。14 人中有 12 人食用了野生蘑菇, 进食后均出现中毒症状, 患病率达 100%。开始进食时间为 6 月 27 日 11:30, 首发病例为 6 月 27 日 11:50 发病, 末例病例为 6 月 27 日 13:30 发病。本次中毒的最短潜伏期为 20 min, 最长潜伏期为 2 h, 中位潜伏期为 30 min。

病例临床表现为头晕、眼花、幻觉等神经精神症状 (91.7%, 11/12) 和恶心、呕吐、腹痛、腹泻等消化道症状 (75.0%, 9/12); 8 例 (66.7%, 8/12) 两类症状均出现 (表 3)。患者出现症状后先被送往镇卫生院进行对症处理, 之后分别被转送到市级和省级三甲

医院进行治疗, 医院对患者进行了催吐、导泻以及静脉输注甘草酸苷、泮托拉唑、甲泼尼龙琥珀酸钠、维生素 B₆ 等处理, 经治疗后均在短时间内痊愈出院。

表 3 病例的人群特征和临床表现

Table 3 Population characteristics and clinical manifestations of cases

病例编号	性别	年龄/岁	进食时间	发病时间	临床表现
1	女	45	11:30	13:00	头昏、呕吐 8~9 次
2	男	46	11:30	13:30	幻视、呕吐 7~8 次
3	男	55	11:30	12:00	头昏、呕吐 5~6 次、腹泻 1 次
4	男	30	11:30	11:50	头昏、呕吐 4~5 次
5	女	45	11:30	12:00	头晕
6	男	40	11:30	11:50	头昏、乏力、呕吐 4~5 次
7	男	53	11:30	13:00	头昏、呕吐 10 次、腹泻 3 次
8	女	31	11:30	12:30	呕吐 1 次
9	男	59	11:30	12:30	头昏、呕吐 2~3 次
10	女	30	11:30	11:50	头晕、眼花、意识混乱、幻觉
11	男	53	11:30	11:50	头晕、头重脚轻不适
12	男	48	11:30	11:50	头晕、恶心、呕吐, 伴下肢麻木和谵妄

2.2 热带紫褐裸伞毒素快速筛查

图 1 为毒蝇碱、裸盖菇素和毒蝇母标准溶液与热带紫褐裸伞的提取离子流色谱图 (以未加工的热带紫褐裸伞为例)。由图 1 可见, 在热带紫褐裸伞中检测出裸盖菇素与毒蝇碱, 其保留时间与标准溶液的基本一致。热带紫褐裸伞检测结果见表 4, 由

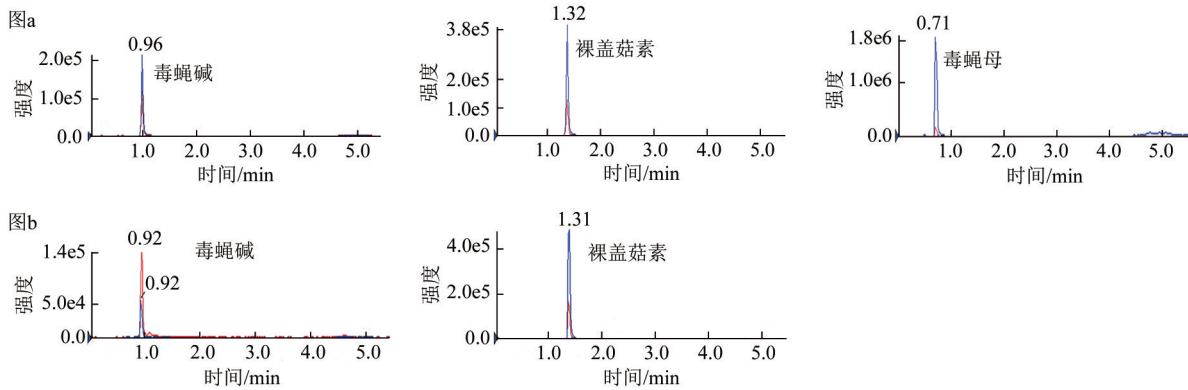


图1 毒蝇碱、裸盖菇素和毒蝇母标准溶液(a)与热带紫褐裸伞(b)的提取离子流色谱图

Figure 1 XIC spectra of muscarine, psilocybin and muscimol standard solution (a) and *Gymnopilus dilepis* (b)

表4 热带紫褐裸伞检测/(mg/kg)

Table 4 Results of *Gymnopilus dilepis*/(mg/kg)

样品	裸盖菇素	毒蝇碱	毒蝇母
未加工的热带紫褐裸伞	1 160.2	0.165	ND
炒熟的热带紫褐裸伞	174.2	0.028 1	ND

注:ND表示未检出

检测结果可见,热带紫褐裸伞经高温烹炒后,两种毒素的含量均降低,但无法彻底清除。

2.3 蘑菇的形态学鉴定结果

中毒现场采集的剩余蘑菇见图2,专家通过形态学鉴定,确认该蘑菇为热带紫褐裸伞(*Gymnopilus dilepis*)。其形态特征为:菌盖小型至中等,直径3~7 cm,紫褐色,中央被褐色至暗褐色直立鳞片;菌肉淡黄色至米色,味苦,菌褶褐黄色至淡锈褐色,菌柄褐色至紫褐色,有细小纤丝状鳞片,菌环丝膜状,易消失,担孢子(6~8.5) μm×(4.5~6) μm^[2]。

2.4 临床实验室检测结果

12名患者误食毒蘑菇当天的肝肾功能检测结果见表5,未收集到其他检测结果的数据指标,据接诊医生反馈,均无明显异常。

3 讨论

2022年6月,云南省昆明市发生一起毒蘑菇中毒事件,流行病学调查显示中毒患者的中毒症状主要以头晕、眼花、幻觉、谵妄等神经精神症状及恶心、呕吐、腹痛、腹泻等胃肠道症状为主,与UPLC-MS/MS检出的裸盖菇素和毒蝇碱毒素引起的中毒反应相符,剩余蘑菇经形态学鉴定为热带紫褐裸伞,可



图2 剩余未加工的蘑菇(A)和炒熟的蘑菇(B)

Figure 2 Remaining unprocessed mushrooms (A) and cooked mushrooms (B)

以确定此次中毒事件是由误食热带紫褐裸伞引起。

热带紫褐裸伞是一种含致幻毒素的毒蘑菇,主要分布在我国华南和西南地区,含有裸盖菇素,误食后可引起交感神经兴奋、心跳加快、血压升高、瞳孔散大以及幻视、幻听等,一般持续4~6 h,24 h内完全消失,不会有神经系统后遗症^[3-5],且不会危及生命^[6]。在此次中毒样品中发现其还含有毒蝇碱,属于神经精神型毒素,主要通过兴奋副交感神经系统而引起寒战、幻觉、流汗、流涎、腹痛腹泻等症状^[7]。严重者则出现狂躁、谵妄和昏迷^[8]。

目前,没有毒蘑菇中毒的特效解毒剂^[9]。在此次蘑菇中毒事件中,患者入院后,通过催吐、洗胃、导泄、保肝、护胃、抗炎、维持电解质平衡等处理,对出现幻觉、谵妄患者还进行了透析治疗,所有患者均在治疗后痊愈出院。据报道,毒蝇碱会对肝脏造

表5 中毒患者肝肾功能结果

Table 5 Liver and kidney function of poisoned patients

项目	检测指标	病例检测结果												参考范围
		例1	例2	例3	例4	例5	例6	例7	例8	例9	例10	例11	例12	
肝功能	谷草转氨酶/(U/L)	23	25	28	24	22	28	35	24	31	27	33	42	10~61
	谷丙转氨酶/(U/L)	19	24	21	18	16	27	26	16	25	17	22	27	0~35
肾功能	尿素/(mmol/L)	5.19	6.23	5.24	5.18	4.01	4.42	4.55	5.56	5.09	5.88	4.98	6.04	2~7.1
	肌酐/(μmol/L)	67	83	73	79	70	81	84	64	58	87	91	89	40~133

成损害,由中毒患者肝肾功能结果可见,患者中毒后的肝肾功能指标正常,且治疗期间至出院也未见肝肾功能异常,表明此次中毒事件毒素并未损害人体的肝脏和肾脏,可能是因为热带紫褐裸伞中毒蝇碱的含量较低。因此,对毒蝇碱中毒的患者给予透析治疗对快速清除毒素,避免症状加重是有积极意义的。另有研究表明酮色林和利培酮可阻断裸盖菇素的致幻效应^[10],但并无实际应用案例。

使用 UPLC-MS/MS 检测中毒样品,既能准确定性又能准确定量,且所需时间较短,为目前检测蘑菇毒素理想的设备。此次事件中,流调人员及时采集患者的剩余可疑食物,为毒素检测提供了必要的生物样本,但未采集患者的胃内容物、血液及尿液标本,因此本研究无法对其进行检测分析,使本事件的完整性存在不足。此次误食热带紫褐裸伞的中毒案例能为此类事件的处置及临床救治提供参考。

参考文献

- [1] 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.
WANG R, GAO Y J, DING F, et al. Epidemiological analysis on mushroom poisoning in China, 2004—2011[J]. Chinese Journal of Public Health, 2014, 30(2): 158-161.
- [2] 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: 149.
CHEN Z H, YANG Z L, TULI G E, et al. Poisonous mushrooms: Recognition and poisoning treatment[M]. Beijing: Science Press, 2016: 149.
- [3] 李林静,李高阳,谢秋涛. 毒蘑菇毒素的分类与识别研究进展[J]. 中国食品卫生杂志, 2013, 25(4): 383-387.
LI L J, LI G Y, XIE Q T. Research progress on poisonous mushroom toxins classification and recognition[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2013, 25(4): 383-387.
- [4] 秦琪,田恩静,包海鹰. 蘑菇毒素分类及其结构式[J]. 菌物研究, 2022, 20(2): 128-140.
QIN Q, TIAN E J, BAO H Y. The classification and structures of mushroom toxins[J]. Journal of Fungal Research, 2022, 20(2): 128-140.
- [5] TYLŠ F, PÁLENÍČEK T, HORÁČEK J. Psilocybin—Summary of knowledge and new perspectives[J]. European Neuropsychopharmacology, 2014, 24(3): 342-356.
- [6] 黄红英,陈作红. 蘑菇毒素及中毒治疗(III)——裸盖菇素[J]. 实用预防医学, 2003, 10(4): 620-622.
HUANG H Y, CHEN Z H. Mushroom toxin and poisoning treatment (III)—Gymnosporin[J]. Practical Preventive Medicine, 2003, 10(4): 620-622.
- [7] XU F, ZHANG Y Z, ZHANG Y H, et al. Mushroom poisoning from *Inocybe serotina*: A case report from Ningxia, northwest China with exact species identification and muscarine detection[J]. Toxicon, 2020, 179: 72-75.
- [8] 刘鑫源,王瑞,罗勇军. 我国毒蕈中毒的医学地理特点及诊治研究进展[J]. 人民军医, 2019, 62(4): 373-377.
LIU X Y, WANG R, LUO Y J. Research progress on medical geographical characteristics, diagnosis and treatment of mushroom poisoning in China[J]. People's Military Surgeon, 2019, 62(4): 373-377.
- [9] 赵航,赵敏. 急性毒蕈中毒的临床分析[J]. 中国医科大学学报, 2020, 49(5): 433-436.
ZHAO H, ZHAO M. Clinical analysis of acute mushroom poisoning[J]. Journal of China Medical University, 2020, 49(5): 433-436.
- [10] 孙毅,苏瑞斌. 致幻剂的药理作用及其机制研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2021, 35(4): 241-250.
SUN Y, SU R B. Research progress in function and mechanism of psychedelics[J]. Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology, 2021, 35(4): 241-250.