

- study[J]. Zdr Varst,2014,54(1): 51-57.
- [6] 李红新,卢迎瑞,张爽,等. 北京市顺义区87名健康人中产气荚膜梭菌携带特征研究[J]. 中国食品卫生杂志,2019,31(1): 13-16.
- [7] 高彭,李颖,刘秀峰,等. 一起由C型产气荚膜梭菌引起的食源性疾患流行病学调查[J]. 首都公共卫生,2018,12(6): 326-327.
- [8] 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.
- [9] 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 沙门氏菌检验:GB 4789.4—2016[S]. 北京:中国标准出版社,2016.
- [10] 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 诺如病毒检验:GB 4789.42—2016[S]. 北京:中国标准出版社,2016.
- [11] 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 产气荚膜梭菌检验:GB 4789.13—2012[S]. 北京:中国标准出版社,2012.
- [12] 邓志爱,李孝权,李钊华,等. 食品中产气荚膜梭菌的分离鉴定与基因分型[J]. 热带医学杂志,2006,6(6): 682-690.
- [13] MASLANKA S E, KERR J G, WILLIAMS G, et al. Molecular subtyping of *Clostridium perfringens* by pulsed-field gel electrophoresis to facilitate food-borne-disease outbreak investigations[J]. J Clin Microbiol,1999,37(7): 2209-2214.
- [14] AKHI M T, BIDAR A S, PIRZADEH T, et al. Antibiotic sensitivity of *Clostridium perfringens* isolated from faeces in Tabriz, Iran[J]. Jundishapur J Microbiol,2015,8(7): e20863.
- [15] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: M10-S15[S]. Wayne, PA, USA:CLSI,2005.
- [16] PETERSEN L R, MSHAR R, COOPER G H, et al. A large *Clostridium perfringens* foodborne outbreak with an unusual attack rate pattern[J]. Am J Epidemiol,1988,127(3): 605-611.
- [17] SCALLAN E, HOEKSTRA R M, ANGULO F J, et al. Foodborne illness acquired in the United States-major pathogens[J]. Emerg Infect Dis,2011,17(1): 7-15.
- [18] SPARKS S G, CARMAN R J, SARKER M R, et al. Genotyping of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* fecal isolates associated with antibiotic-associated diarrhea and food poisoning in North America[J]. J Clin Microbiol,2001,39(3): 883-888.
- [19] HARRISON B, RAJU D, GARMORY H S, et al. Molecular characterization of *Clostridium perfringens* isolates from humans with sporadic diarrhea: evidence for transcriptional regulation of the beta2-toxin-encoding gene [J]. Appl Environ Microbiol, 2005,71(12): 8362-8370.
- [20] FINEGOLD S M, SUMMANEN P H, DOWNES J, et al. Detection of *Clostridium perfringens* toxin genes in the gut microbiota of autistic children[J]. Anaerobe,2017,45(2): 133-137.
- [21] 中华人民共和国卫生部. 食物中毒诊断标准及技术处理总则:GB 14938—94[S]. 北京:中国标准出版社,1994.
- [22] 李颖,李长青,王彦波,等. 一起由C型产气荚膜梭菌引起的食源性疾病致病因子检测[J]. 中国卫生检验杂志,2016,26(23): 45-47.

食物中毒

一起条盖盔孢伞中毒事件调查

何志凡¹, 马海英², 张强², 骆春迎¹, 冯敏¹, 王希希¹, 王瑶¹, 李晓辉¹

(1. 成都市疾病预防控制中心, 四川 成都 610041; 2. 温江区疾病预防控制中心, 四川 温江 611130)

摘要:目的 对2019年成都市发生的一起毒蘑菇中毒事件进行调查分析,明确中毒原因,总结调查处置经验。方法 通过流行病学调查,毒蘑菇样品的形态学鉴定、分子生物学鉴定和毒素检测,综合判断本起食物中毒的原因。结果 本起毒蘑菇中毒事件暴露人数3人,发病3人,死亡1人,早期临床表现为腹痛、呕吐、腹泻等,后逐渐出现肝功能损害。毒蘑菇样品经形态学和分子生物学鉴定为条盖盔孢伞。样品中检出 α -鹅膏毒肽、 β -鹅膏毒肽和 γ -鹅膏毒肽。结论 本起食物中毒是由误食毒蘑菇条盖盔孢伞引起。为防范类似事件再次发生,应做好大众健康教育,加强食品安全监管及食源性疾病预防力度,并提高医疗机构的诊疗能力。

关键词:毒蘑菇;条盖盔孢伞;食物中毒;调查

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2020)04-0460-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2020.04.021

收稿日期:2020-04-21

作者简介:何志凡 女 副主任医师 研究方向为营养与食品卫生 E-mail: bendi78@163.com

通信作者:李晓辉 女 主任医师 研究方向为营养与食品卫生 E-mail: lxhqj1@163.com

An investigation of a food poisoning by *Galerina sulciceps*

HE Zhifan¹, MA Haiying², ZHANG Qiang², LUO Chunying¹, FENG Min¹,
WANG Xixi¹, WANG Yao¹, LI Xiaohui¹

(1. Chengdu Center for Disease Control and Prevention, Sichuan Chengdu 610041, China;
2. Wenjiang Center for Disease Control and Prevention, Sichuan Wenjiang 611130, China)

Abstract: Objective To investigate a food poisoning caused by wild mushrooms and to identify the risk factors. **Methods** Epidemiological investigation, morphological and phylogenetic identification, and laboratory testing were taken to analyze the poisoning event. **Results** All the three cases complained of abdominal pain, vomiting and diarrhea after ingesting the poisonous mushrooms, and liver function impairment was found later. One case died after 5 days. The mushroom was identified as *Galerina sulciceps* by morphological and phylogenetic identification. Three kinds of toxins, include α -amanitin, β -amanitin and γ -amanitin were detected in laboratory. **Conclusion** The incident was caused by ingesting the poisonous mushroom, *Galerina sulciceps*. Public education, market supervision, foodborne disease surveillance should be enhanced, and the ability of medical institutions to diagnose and treat poisonous mushrooms should be improved.

Key words: Mushroom; *Galerina sulciceps*; food poisoning; investigation

毒蘑菇中毒是食物中毒导致死亡的最主要原因^[1-2]。根据中国疾病预防控制中心“突发公共卫生事件报告管理信息系统”上报的毒蘑菇中毒事件统计表明,2004—2014年全国毒蘑菇中毒导致死亡的人数占食物中毒总死亡人数的35.6%^[3]。在四川省,毒蘑菇不仅是食物中毒导致死亡的最主要原因,也是食物中毒发生的最主要原因。2010—2018年四川省毒蘑菇引起的家庭内食物中毒事件数和死亡人数分别占家庭内食物中毒总事件数和总死亡人数的61.5%和50.0%^[4];2017年成都市毒蘑菇引起的食物中毒事件数占总事件数的75.9%^[5]。

2019年10月,成都市发生一起3人因误食剧毒蘑菇条盖盔孢伞引起中毒的事件。本研究采用流行病学调查、实验室检测、形态学鉴定和分子生物学鉴定等方法对该起事件进行了调查。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 流行病学调查

成都市疾病预防控制中心联合事发地疾病预防控制中心工作人员对毒蘑菇中毒事件进行调查、核实,对接诊医生进行访谈,了解中毒患者的主要临床表现和诊疗情况,摘录相关病历资料;对患者及家属进行访谈,重点调查可疑蘑菇的采集、加工和进食情况,由家属指认蘑菇采集地,对蘑菇进行现场拍照和采集。

1.1.2 主要仪器与试剂

液相色谱仪、Q-Orbitrap 串联质谱仪均购自美国 Thermo Scientific。 α -鹅膏毒肽(CAS号:23109-05-9)、 β -鹅膏毒肽(CAS号:21150-22-1)、 γ -鹅膏毒肽(CAS号:21150-23-2)、二羟基鬼笔毒肽(CAS号:

17466-45-4)、羧基二羟基鬼笔毒肽(CAS号:26645-35-2)、羧基三羟基鬼笔毒肽(CAS号:58286-46-7)标准溶液和HLB固相萃取柱(6 mL/100 mg)均购自福州勤鹏生物科技有限公司,DNA提取试剂盒(北京擎科生物科技有限公司),所有试验用水均为超纯水。

1.2 方法

1.2.1 形态学鉴定

对可疑蘑菇进行拍照,将照片发给四川省林业科学研究院对其形态进行鉴定。

1.2.2 分子生物学鉴定

将采集的蘑菇按植物DNA提取试剂盒提取DNA,利用聚合酶链式反应(PCR)技术对内转录间隔区(ITS)片段进行扩增和测序。取PCR产物以150 V、100 mA 20 min电泳观察并拍照记录。PCR产物电泳结束后,切割目的DNA条带,纯化后用引物直接测序。ITS序列利用BLAST与美国国家生物技术信息中心(NCBI)的GenBank核酸序列数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Vibrio+vulnificus/>)进行比对。使用Mega软件构建系统发育树。

1.2.3 鹅膏毒肽毒素实验室检测

按照《2017年国家食品污染物和有害因素风险监测工作手册》^[6]中的方法进行前处理后上机测定。

2 结果

2.1 基本情况

2019年10月5日,成都市温江区村民王某(奶奶)在自家院内水杉树下采摘野生蘑菇约300 g,当日中午家中烹炒后,供祖孙三人食用。爷爷张某(65岁)食用约200 g,奶奶王某(62岁)食用约

100 g, 孙子张某(3岁10个月)仅食蘑菇汤汁约50 g。10月6日3人陆续出现腹痛、呕吐、腹泻等症状, 爷爷、奶奶分别于10月6日和10月7日在当地乡镇卫生院住院治疗, 10月9日转至上级医院, 分别于10月12日和10月14日出院。孙子10月6日在当地妇幼保健院初诊, 10月8日再次入院, 10月11日凌晨死亡。

2.2 临床表现和救治

孙子、爷爷、奶奶在进食野生蘑菇14~17 h后先后出现腹痛、呕吐、腹泻等症状。爷爷、奶奶入院诊断为“急性胃炎”“疑似毒菌中毒”。实验室检查发现两人肝功能均有异常, 奶奶的丙氨酸氨基转移

酶(ALT)最高为参考值范围高限的46倍。经抗炎、养胃、补液等对症支持治疗, 两人分别于10月12日和10月14日好转出院。孙子10月6日初诊为“急性胃炎”, 给予妈咪爱对症治疗; 10月8日复诊输液过程中突发意识障碍, 转至上级医院。当日实验室检查发现ALT和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)检测值分别为参考值高限的386倍和450倍。治疗后尽管ALT和AST有所下降, 但开始出现肾功能异常。10月10日检查发现肌酐(CREA)为参考值高限的4.4倍。经保肝等对症治疗, 孙子的病情仍进一步发展, 于10月11日凌晨死亡。3名中毒患者的就诊及转归过程见图1, 实验室检查结果见表1。

日期	时间	奶奶	爷爷	孙子
10月5日	12:00左右	进食野生蘑菇约100 g	进食野生蘑菇约200 g	未食用野生蘑菇, 仅食蘑菇汤汁约50 g
10月6日	2:00~5:00	恶心、呕吐、腹痛(先胀痛, 后绞痛)、腹泻	恶心、腹痛(阵发性脐周疼痛)、腹泻	腹痛、呕吐
	11:00左右	自行购药服用	当地乡镇卫生院就诊, 以“急性胃炎”收治入院	
	16:00左右		乡镇卫生院修正诊断为“急性胃炎”、“疑似毒菌中毒”	
	17:00左右			当地妇幼保健院就诊, 以“无诱因呕吐”诊断为“急性胃炎”
10月7日	8:00左右	当地乡镇卫生院就诊, 以“急性胃炎”、“疑似毒菌中毒”收治入院		
	16:00左右		乡镇卫生院修正诊断为“急性胃炎”、“毒菌中毒”	
10月8日	9:00左右		腹痛、腹胀无缓解, 伴乏力	
	10:00左右			因症状未缓解到当地妇幼保健院复诊, 以“急性胃肠炎”、“食物中毒”收治入院
	14:00左右			输液过程中突发意识障碍、说胡话, 转至上级医院
10月9日	10:00左右			病情危重, 浅昏迷, 诊断为: 毒菌中毒、肝功能衰竭、肝性脑病、颅高压综合征
	12:00左右	因腹痛无明显缓解, 同时肝功能异常无改善, 转至上级医院	因腹痛无明显好转, 考虑肝功能异常及饮食史, 转至上级医院	
10月11日	1:21			死亡
10月12日			好转出院	
10月14日			好转出院	

图1 3名中毒患者的发病、就诊及转归图

Figure 1 Incidence, consultation and outcome of 3 poisoned patients

表1 3名中毒患者实验室检查主要指标结果

Table 1 Main results of laboratory tests of 3 poisoned patients

检测项目	检测指标	奶奶				爷爷		成人参考值范围	孙子				
		10月7日	10月8日	10月9日	10月11日	10月6日	10月12日		10月6日	10月8日	10月9日	10月10日	参考范围
肝功能检查	ALT/(U/L)	1 186.00	1 221	2 103	831	102	—	5~45	—	15 446	7 150	2 856	0~40
	AST/(U/L)	795.00	813	499	108	141	—	8~40	—	18 033	8 907	2 995.5	0~40
肾功能检查	CREA/(μmol/L)	133.00	143	53	57	125	87	12~133	—	35.3	56.6	242.1	17.3~54.6
	UA/(μmol/L)	404.00	409	243	255	397	276	37~363	—	340	510	518	210~430
血常规	WBC/(×10 ⁹ /L)	10.98	—	—	8.73	8.90	4.04	3.50~9.50	8.9	12.8	5.7	13.8	3.6~13.0
	NE%/%	85.2	—	—	82.2	83.8	61.9	40.0~75.0	82.8	82.6	84.6	75.0	12.9~56.7
	LY%/%	11.4	—	—	13.1	2.0	26.2	20.0~50.0	10.3	4.5	6.3	16.7	35.4~78.6

注: UA:尿酸; WBC:白细胞; NE%:中性粒细胞百分比; LY%:淋巴细胞百分比; —表示未检测; 因各医疗机构参考值范围不同, 本参考值范围取最宽范围; 各检测结果取当日最高值

2.3 形态学鉴定

现场采集毒蘑菇样品(图2):子实体小。菌盖直径1.3~4.5 cm, 半球形、钟形至扁平部凸起, 中部

色深, 边缘具不明显的细条棱, 湿润时粘。菌肉淡褐色。菌褶初期黄色, 后变黄褐, 直生、较密, 不等长。菌柄长5.4~8.3 cm, 粗0.3~0.7 cm, 上部黄

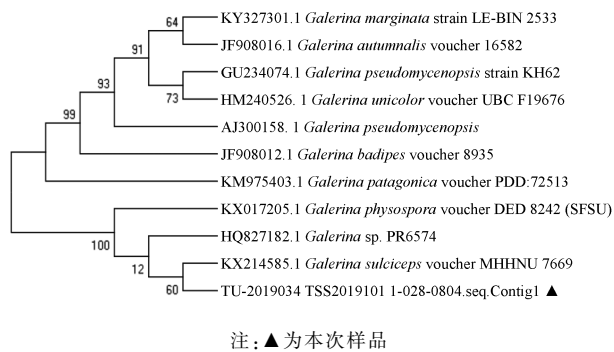
色,下部黑褐色,空心。菌环膜质,生菌柄上部。其形态学特征与条盖盔孢伞特质一致,经四川省林业科学研究院专家鉴定为“条盖盔孢伞”。



图2 条盖盔孢伞
Figure 2 *Galerina sulciceps*

2.4 分子生物学鉴定

蘑菇样品 ITS 序列与 GenBank 核酸序列数据库对比发现,该 DNA 片段与编号为 KX214585.1 的菌序列相似度为 99%。该编号的菌种名称为 *Galerina sulciceps*,中文名为条盖盔孢伞。用 Mege 软件构建系统发育树,进行系统发育学分析。本研究新产生的序列(GenBank No. MT150619)与条盖盔孢伞聚类同一分支,并获得极高支持率(见图3),鉴定该样品为条盖盔孢伞。综合以上结果,可以确定本次导致食物中毒的野生蘑菇为条盖盔孢伞。



注:▲为本次样品
图3 条盖盔孢伞系统发育树

Figure 3 Phylogenetic relation tree of *Galerina sulciceps*

2.5 鹅膏毒肽检测

实验室检测结果为 α -鹅膏毒肽、 β -鹅膏毒肽和 γ -鹅膏毒肽检出,检出值分别为 131、64.8、7.46 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (蘑菇样品为鲜重),质谱图见图4;二羟基鬼笔毒肽、羧基二羟基鬼笔毒肽、羧基三羟基鬼笔毒肽未检出。

3 讨论

近几年,全国各地陆续出现条盖盔孢伞导致中毒甚至死亡的事件^[7-8]。条盖盔孢伞是一种剧毒蘑

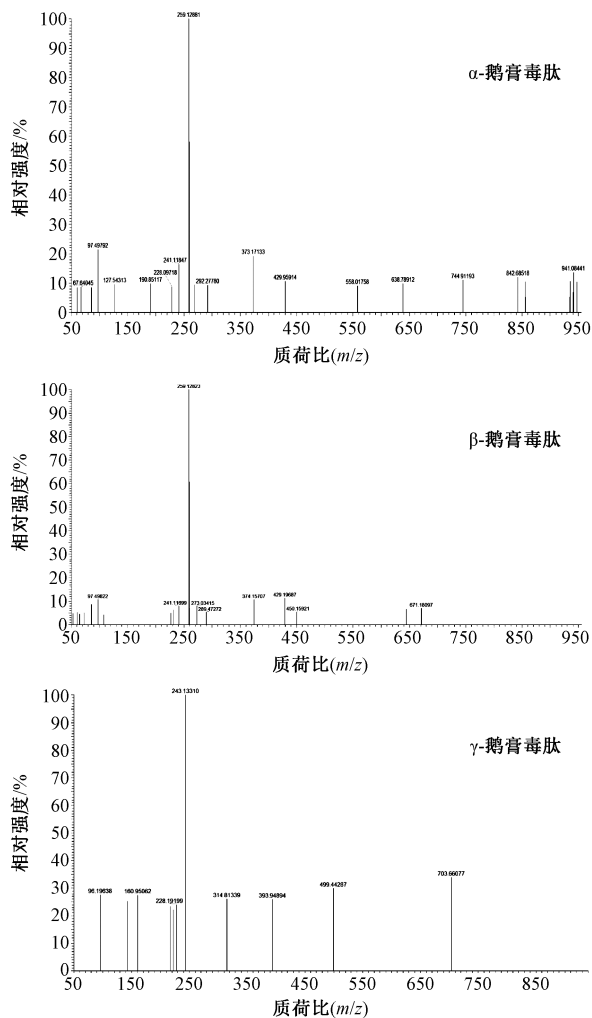


图4 样品中鹅膏毒肽质谱图

Figure 4 Mass spectrum of amanitin in the sample

菇^[9-10],其毒素主要为鹅膏毒肽^[11]和鬼笔毒肽,中毒型别主要有溶血型、肝脏损害型、呼吸循环衰竭型和胃肠炎型^[10]。

本起事件在样品中检出 α -鹅膏毒肽、 β -鹅膏毒肽和 γ -鹅膏毒肽。研究表明,鹅膏毒肽类毒素主要对肝脏组织和细胞产生损害,其毒作用机制主要为抑制真核细胞 RNA 聚合酶 II 的活性、诱导细胞凋亡^[12]、造成氧化损伤^[13]。鹅膏毒肽类毒素中毒后临床表现大致可分为五个时期:无明显症状的潜伏期(8~30 h),以呕吐、腹痛、腹泻等为表现的胃肠炎期(24~48 h),症状缓解但肝肾开始损害的假愈期(约24 h),容易导致死亡的脏器损害期(72~96 h)及恢复期^[14]。本起事件中,三名患者假愈期不明显,2名老年患者经历了潜伏期、胃肠炎期、脏器损害期及恢复期;幼童在脏器损害期死亡。

鹅膏毒肽毒性强烈, α -鹅膏毒肽对人的半数致死量为 0.15 mg/kg ^[14]。一个 60 kg 的成年人,9 mg α -鹅膏毒肽即可致死。本起事件样品中鹅膏毒肽检出量不高,这可能是由于毒素本身在不同生长部位

毒蘑菇中的分布是不均匀的,而毒蘑菇被采食后剩余量少,无法进行多点采样,因此一次毒素定量结果未能准确反映其毒性大小。

本起事件最终导致一人死亡,分析原因认为有以下三方面:首先,死亡患者为3岁儿童。儿童抵抗力低,对鹅膏毒肽特别敏感^[15],属高危人群^[16]。其次,患儿未得到及时有效的治疗。本起事件3名患者肝功能检查结果显示,10月6日爷爷初诊时ALT、AST两项指标超标并不明显,10月7日奶奶初诊时两项指标分别约为前一日爷爷的5倍和10倍,10月8日孙子首查肝功能发现指标已严重异常。从3人的预后看,越早明确诊断并治疗的,预后越好。2015年温州也发生了一起食用毒蘑菇后因就诊治疗不及时导致中毒6人全部死亡的事件^[17]。最后,未及时正确诊断患儿的病因。鹅膏肽类毒素耐高温,耐酸碱,易溶于水,一般的烹调加工不会破坏其毒性^[18]。由于家属缺乏相应的知识储备,因此在首诊过程中未主动向医生提供相关信息,幼童的首诊医生未细致询问其饮食史;爷爷奶奶在入院后即被知晓进食野生蘑菇,诊断亦怀疑“毒菌中毒”,但是接诊医生也未仔细询问是否有其他人共同就餐,并提醒其他进食者及时就医。饮食史的不明确误导了医生的正确诊断,最终延误治疗导致患儿死亡。

野生蘑菇导致食物中毒频发的原因,一是成都山区有采食野生蘑菇的习惯,村民往往会以习惯进行辨认是否可食。二是目前网络充斥着大量“如何鉴别野生蘑菇是否有毒”的相关文章,让广大网民误以为只要根据所谓的几点步骤进行鉴别就能防止误食有毒蘑菇。而事实证明,这些手段并不可靠。三是民众过于追求野味、美味,从而制作、购买干野生蘑菇。而野生蘑菇一旦被切片、晒干则更不易辨认,若里面混杂有毒蘑菇则极易导致中毒。近两年,成都发生多起因食用干野生蘑菇导致的中毒事件。四是偏远农村信息闭塞,留守老人和留守儿童众多,相关宣教信息通过常规途径往往难于送达。

因此,为了预防此类悲剧的再次发生,首先应多途径、多渠道、多方式地做好健康教育,告诫民众不买、不采、不食野生蘑菇,最好选购人工栽培的蘑菇食用。其次,相关部门应加大监管力度,严禁野

生蘑菇的出售和制作。再次,加强食源性疾病的监测力度,做好可疑食品的询问和记录。最后,提高医疗机构的诊疗水平及毒蘑菇中毒后的救治能力。

参考文献

- [1] 国家卫生和计划生育委员会. 国家卫生计生委办公厅关于2015年全国食物中毒事件情况的通报:国卫办应急发[2016]5号[J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(3): 290, 391, 408.
- [2] 江凯, 熬亚平, 罗海波, 等. 1999—2015年全国食物中毒情况分析[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(28): 147-150, 154.
- [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] 陈文, 兰真, 程刚, 等. 2010—2018年四川省家庭内食源性疾病暴发事件分析[J]. 现代预防医学, 2019, 46(23): 4391-4395.
- [5] 刘竹, 李晓辉, 王瑶, 等. 2017年成都市有毒植物中毒监测分析[J]. 现代预防医学, 2019, 46(7): 1308-1320.
- [6] 国家食品安全风险评估中心. 2017年国家食品污染物和有害因素风险监测工作手册[Z]. 2017.
- [7] 郭超, 杨承亮, 李新和, 等. 条盖盔孢伞中毒事件的调查分析[J]. 药物不良反应杂志, 2013, 15(1): 583-587.
- [8] 张宏民, 叶继嵩, 王伟, 等. 贵州省首起条盖盔孢伞菌中毒事件调查分析[J]. 黔南民族医学学报, 2015, 28(3): 195-198.
- [9] 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.
- [10] 图力古尔, 包海鹰, 李玉. 中国毒蘑菇名录[J]. 菌物学报, 2014, 33(3): 517-548.
- [11] 黄双, 陈作红, 张平. 条盖盔孢伞子实体及菌丝体中鹅膏毒素检测[J]. 菌物研究, 2015, 13(3): 164-167.
- [12] MAS A. Mushrooms, amatoxins and the liver[J]. J Hepatol, 2005, 42(2): 166-169.
- [13] ZHELEVA A, TOLEKOVA A, ZHELEV M, et al. Free radical reactions might contribute to severe alpha amanitin hepatotoxicity—a hypothesis [J]. Med Hypotheses, 2007, 69(2): 361-367.
- [14] 孙健, 孙承业, 李海蛟, 等. 鹅膏肽类毒素的研究进展[J]. 中华急诊医学杂志, 2006, 25(8): 1076-1081.
- [15] GRAEME K A. Mycetism: a review of the recent literature[J]. J Med Toxicol, 2014, 10(2): 173-189.
- [16] TAVASSOLI M, AFSHARI A, ARSENE A L, et al. Toxicological profile of *Amanita virosa*-a narrative review [J]. Toxicol Rep, 2019, 6(1): 143-150.
- [17] 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.
- [18] 孙延斌, 曹若明, 刘素, 等. 1起误食淡玫红鹅膏菌引起的中毒调查[J]. 预防医学论坛, 2012, 18(10): 778-782.