

食源性疾病

梅州市一起致命鹅膏中毒事件的调查与分析

胡贝^{1,2}, 钟桂红³, 何淑娴¹, 余其胜⁴, 甘莉霞¹, 秦华明², 李挺¹, 邓旺秋¹, 张成花¹

(1. 广东省科学院微生物研究所, 华南应用微生物国家重点实验室, 广东省菌种保藏与应用重点实验室, 广东广州 510070; 2. 暨南大学环境学院, 广东广州 511443; 3. 梅州市疾病预防控制中心, 广东梅州 514071; 4. 丰顺县疾病预防控制中心, 广东丰顺 514399)

摘要:目的 调查2022年广东省梅州市发生的一起毒蘑菇中毒事件, 为毒蘑菇中毒的防控提供科学依据。方法 对中毒原因开展流行病学调查, 对可疑毒蘑菇样品进行鉴定, 同时测定毒蘑菇样品和患者血液与尿液中的毒素。结果 本次毒蘑菇中毒事件4人均出现中毒症状, 经治疗均治愈出院。涉事蘑菇样品经鉴定为致命鹅膏(*Amanita exitialis*)。剩余毒蘑菇汤、已煮毒蘑菇子实体、未煮毒蘑菇子实体残余组织和事发地采集的毒蘑菇中均检出 α -鹅膏毒肽; 患者血液和尿样本中均未检出 α -鹅膏毒肽。结论 本次事件是因误食致命鹅膏引起的中毒事件, 当地村民食品安全防范意识薄弱, 需加强对野生蘑菇知识的普及, 建立毒蘑菇中毒快速检测技术体系, 减少毒蘑菇中毒和死亡事件的发生。

关键词:致命鹅膏; 食物中毒; 分子鉴定; α -鹅膏毒肽

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2023)10-1533-05

DOI: 10.13590/j.cjfh.2023.10.019

Investigation and analysis of a poisoning incident caused by *Amanita exitialis* in Meizhou

HU Bei^{1,2}, ZHONG Guihong³, HE Shuxian¹, YU Qisheng⁴, GAN Lixia¹, QIN Huaming², LI Ting²,
DENG Wangqiu¹, ZHANG Chenghua¹

(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, State Key Laboratory of Applied Microbiology Southern China, Guangdong Institute of Microbiology, Guangdong Academy of Sciences, Guangdong Guangzhou 510070, China; 2. Jinan University, College of Environment, Guangdong Guangzhou 511443, China; 3. Meizhou Disease Prevention and Control Center, Guangdong Meizhou 514071, China; 4. Fengshun County Disease Prevention and Control Center, Guangdong Fengshun 514399, China)

Abstract: Objective To investigate a mushroom poisoning incident in Meizhou City, Guangdong Province in 2022, and provide a scientific basis for the prevention and control measures. **Methods** Epidemiological investigations were carried out on the causes of poisoning, and suspected poisonous mushroom samples were collected for identification, and toxin contents of the mushroom, blood and urine samples were determined. **Results** In this mushroom poisoning incident, 4 people developed poisoning symptoms after eating wild mushrooms. After treatment, all patients were cured. The mushroom sample was identified as *Amanita exitialis*. The content of α -amanitin toxin detected in the remaining suspicious samples collected mushroom soup, boiled fruiting bodies, uncooked mushroom residual tissues, and no blood and urine samples were detected α -amanitin. **Conclusion** This poisoning incident is caused by *Amanita exitialis*. The local villagers have weak awareness of food safety. It is necessary to strengthen the popularization of wild mushroom knowledge, establish a rapid detection technology system for mushroom poisoning, and reduce the occurrence of

收稿日期: 2022-08-31

基金项目: 国家重点研发计划项目(2021YFA0910200); 国家自然科学基金项目(31970024、32170009); 科技部高端外国专家引进计划(G2022030055L)

作者简介: 胡贝 女 在读硕士生 研究方向为真菌资源研究与利用 E-mail: hubeidd@163.com

通信作者: 邓旺秋 女 研究员 研究方向为真菌资源研究与利用 E-mail: dengwq@gdim.cn

张成花 女 副研究员 研究方向为真菌资源研究与利用 E-mail: zhangch@gdim.cn

邓旺秋和张成花为共同通信作者

mushroom poisoning and death incidents.

Key words: *Amanita exitialis*; Food poisoning; Molecular identification; α -amanitin

剧毒鹅膏菌是导致我国致死性蘑菇中毒事件的主要元凶之一,其中该类蘑菇中毒死亡事件占我国蘑菇中毒死亡事件的70%以上^[1]。剧毒鹅膏菌中含有鹅膏环肽毒素,其具有毒性强、致死剂量极低等特点^[2],主要包括致命鹅膏(*Amanita exitialis* Zhu L. Yang & T. H. Li)、灰花纹鹅膏(*Amanita fuliginea* Hongo)和裂皮鹅膏(*Amanita rimosa* P. Zhang & Zhu L. Yang)等种类^[3]。致命鹅膏又称致命白毒伞,最早发现是源于广东广州发生的一起9人中毒9人死亡的严重中毒事件,后在广东深圳、东莞、中山、清远、江门,以及云南、贵州、四川和福建等地也发生了中毒事件。 α -鹅膏毒肽是致命鹅膏中含量最高、毒性最强的毒素,其致死量为0.1 mg/kg体重^[4]。在华南地区所有剧毒鹅膏中毒事件中,由致命鹅膏引起的中毒事件起数、中毒人数和死亡人数均为最多,占总数的70%^[5]。因此,致命鹅膏已成为华南地区毒蘑菇中毒的“头号杀手”。2022年2月13日广东省梅州市丰顺县发生一起4人误食毒蘑菇中毒事件,作者通过流行病学调查、形态学和分子生物学鉴定,以及蘑菇毒素检测等对该起事件中中毒原因进行调查和分析,以期同类蘑菇中毒的预防、毒素检测和患者的救治提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

已煮剩余毒蘑菇子实体、剩余的毒蘑菇汤、未煮的毒蘑菇子实体残余组织、事发地采集的疑似涉事毒蘑菇子实体(见图1),另外采集的样品还有中毒患者血液及尿液。

1.2 主要仪器与试剂

液相色谱串联四级杆高分辨质谱联用仪(Thermo/Q Exactive Focus,德国 Thermo Scientific 公司)。

α -鹅膏毒肽标准品(α -amanitin,含量均 $\geq 90\%$,由湖南师范大学生命科学学院真菌研究室提供);乙腈和乙酸(色谱纯,购自上海安谱实验科技股份有限公司);甲醇、KOH和刚果红(分析纯,购自广州化学试剂厂);DNA提取试剂盒(购自广州美基生物科技有限公司);引物(由北京六合华大基因科技有限公司广州分公司合成)。

1.3 流行病学调查

对中毒时间、地点、人数,患者进食的毒蘑菇来源、加工和食用情况,中毒发病症状、潜伏期等进行调查询问;了解患者临床特征、诊治情况,收集剩余



注:a.已煮的剩余毒蘑菇子实体;b.剩余的蘑菇汤;c.采集未煮的蘑菇子实体残余组织(仅为菌托);d.事发地采集的疑似涉事毒蘑菇子实体

图1 中毒事件中检测的样品

Figure 1 The samples detected in the poisoning incident

可疑毒蘑菇样品,并到事发地搜寻和采集可疑蘑菇。

1.4 毒蘑菇物种鉴定

1.4.1 形态学鉴定

参照《中国鹅膏科真菌图志》^[6]、《毒蘑菇识别与中毒防治》^[4]和《中国真菌志·27卷·鹅膏菌科》^[7]等文献方法,对采集到的毒蘑菇子实体形态进行鉴定。

1.4.2 分子生物学鉴定

参照 WHITE T J^[8]的方法,采用 ITS 片段对毒蘑菇子实体进行分子鉴定,并参照 KUMAR S^[9]的方法采用 MEGA 7 软件构建系统发育树,最大似然法(ML)进行计算,用 Bootstrap 对系统树进行检验,1 000 次重复。

1.5 毒素检测

所有样品应用超高效液相色谱-串联质谱法进行 α -鹅膏毒肽检测。固体毒蘑菇样品按照国家市场监督管理总局食品补充检验方法《蘑菇中 α -鹅膏毒肽等6种蘑菇毒素的测定》(BJS 202008)、液体样品按照吉林省地方标准《血液、尿液中6种蘑菇毒素的测定液相色谱-串联质谱法》(DB 22/T 3049—2019)进行检测。

2 结果

2.1 流行病学调查

2.1.1 基本情况

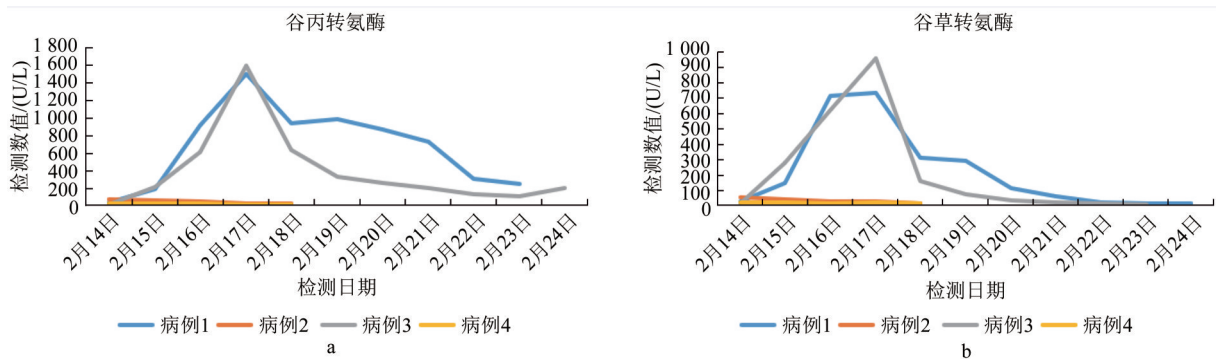
2022年2月13日上午广东省梅州市丰顺县汤

坑镇徐某山(病例1)和张某颂(病例2)在后安山半山腰处采集约250~500 g白色蘑菇,晚上18:00左右徐某山一家及朋友张某颂在徐某山家共进晚餐,席间徐某山、彭某意(病例3)、徐某琪、徐某凝和张某颂5人进食了蘑菇肉丸汤。14日约06:00彭某意、张某颂相继出现呕吐、腹痛等症状,07:00徐某山也出现呕吐、腹痛症状,10:45左右三人自行前往丰顺县中医院就诊,12:00左右马某基(病例4)在徐某山家自行加热进食13日吃剩的蘑菇肉丸汤。15日1:00左右马某基出现症状,即刻前往县中医院就诊治疗,截至15日18:00,徐某琪、徐某凝(病例1女儿)未出现明显不适症状。

表1 4例患者血液生化检测主要指标结果

Table 1 The blood biochemical test results of 4 patients

姓名	性别	年龄/岁	潜伏期/h	血液生化检测主要指标峰值				出现峰值的时间/d
				ALT/(U/L)	AST/(U/L)	LDH/(U/L)	Tbil/(μ mol/L)	
病例1	男	30	13	1 504.00	734.00	689.00	25.10	4
病例2	男	30	12	72.71	55.10	243.07	20.70	3
病例3	女	22	12	1 587.00	952.00	454.00	19.60	4
病例4	男	23	13	32.00	26.00	175.00	18.80	3



注:a. 谷丙转氨酶变化趋势图;b. 谷草转氨酶变化趋势图

图2 中毒患者肝功能指标检测情况

Figure 2 Detection of liver function indexes in patients

2.2 毒蘑菇物种鉴定

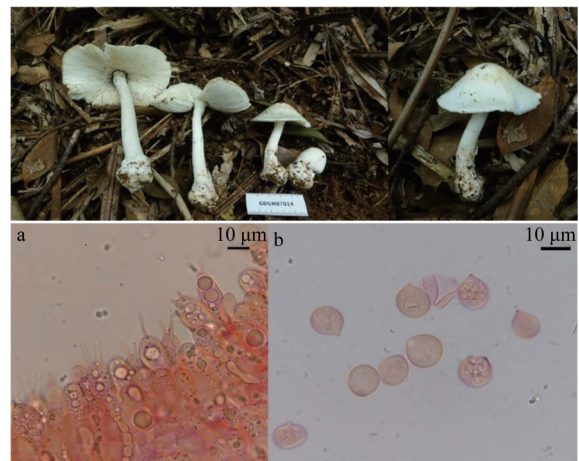
事件发生后,调查人员对毒蘑菇来源、剩余毒蘑菇样品进行调查并在后安山半山腰处寻获疑似涉事白蘑菇近十朵,经形态学鉴定(图3),毒蘑菇样品为致命鹅膏。

2.3 系统发育分析

将中毒事件的毒蘑菇样品(GDGM87014、87015、87016、87017)的ITS片段测序结果在NCBI数据库中进行比对,比对结果显示中毒事件毒蘑菇样品与致命鹅膏序列一致性为100%。系统发育树结果表明(图4)中毒事件毒蘑菇样品位于檐托鹅膏组(Sect. *Phalloideae*),与NCBI数据库中提交的致命鹅膏(*Amanita exitialis* Zhu L. Yang & T. H. Li)的ITS序列聚类到同一分支,支持率为90%。因此,分

2.1.2 临床表现及救治情况

4名病例潜伏期最短为12 h,最长为13 h,平均为12.5 h。早期表现为呕吐、腹痛、腹泻等胃肠道症状,病程进展较缓,呕吐3~10次/d,无发热,粪便呈黄色烂便,临床表现以轻症为主,未出现重症病例。经催吐、护肝等治疗,并进行血液生化检验,其中主要指标包括谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)以及总胆红素(Tbil)。结果显示(见表1和图2),病例1和3的ALT、AST和LDH指标明显升高,且在中毒第四天出现最高值。鉴于徐某山谷草转氨酶升高,4人转入梅州市人民医院继续接受导泻、护肝、CRRT血透等治疗。截至2月24日,4例患者均治愈出院。



注:a. 担子;b. 担孢子

图3 事发地采集的致命鹅膏子实体和毒蘑菇显微结构图

Figure 3 *Amanita exitialis* collected at the incident site and Microscopic features

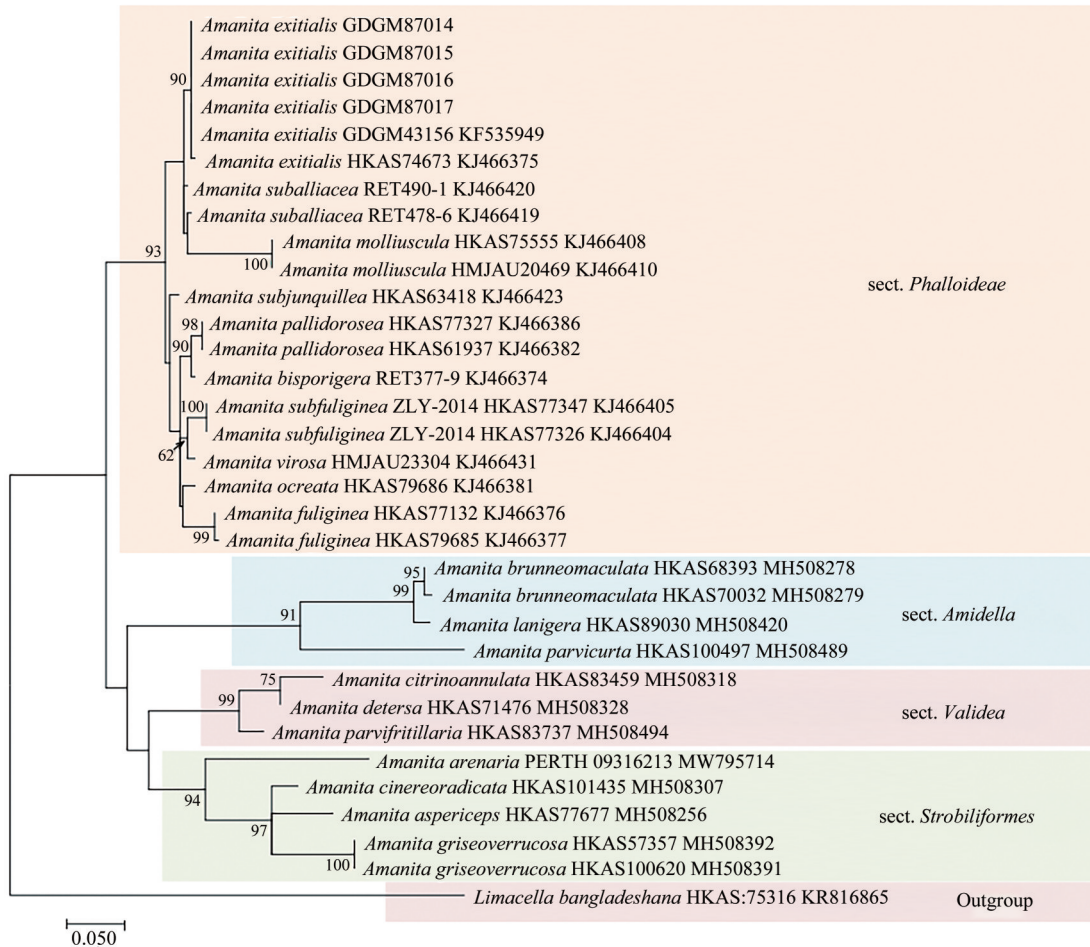


图4 基于ITS序列构建的中毒蘑菇样品系统发育树

Figure 4 Phylogenetic tree based on ITS sequences of poisoned mushroom samples

子系统学结果支持本研究的中毒事件毒蘑菇样品为致命鹅膏。

2.4 蘑菇毒素检测结果

采集的剩余可疑样品毒蘑菇汤、已煮毒蘑菇子实体、未煮毒蘑菇子实体残余组织和事发地采集的毒蘑菇中均检出 α -鹅膏毒肽,浓度分别为827.63 ng/mL、50.46 μ g/g 湿重、1 046.79 μ g/g 干重和4 433.54 μ g/g 干重。所有病例血液和尿样样本中均未检出 α -鹅膏毒肽。

3 讨论

我国已报道有500多种毒蘑菇,其中广东省有200多种。每年因误食野生毒蘑菇中毒的事件频频发生,据统计,目前毒蘑菇中毒的死亡率排在食源性疾病暴发致病因子的首位^[10]。毒鹅膏菌的中毒类型主要包括急性肝脏损害型、急性肾衰竭型和神经精神型三种类型,该事件中的致命鹅膏属于急性肝脏损害型^[11]。研究表明,广东省的毒鹅膏中毒事件主要发生在广州、深圳、中山和东莞等地区,此次梅州市是首次发生致命鹅膏中毒事件。

钟加菊等^[12]通过研究对致命鹅膏不同生长时

期(生长期、成熟期和衰老期)中菌盖、菌柄和菌托的毒素含量发现:致命鹅膏中 α -鹅膏毒肽含量从生长期、成熟期到衰老期逐渐降低,在3个生长阶段毒素含量均符合菌盖>菌柄>菌托的趋势。本次蘑菇毒素检测结果表明,已煮毒蘑菇子实体、剩余毒蘑菇汤、未煮毒蘑菇子实体残余组织和事发地采集的毒蘑菇中毒素含量也存在差异,其中事发地补充采集的新鲜毒蘑菇样品(完整子实体)毒素含量最高,而患者剩余未煮的残留组织因只有菌托,其毒素含量明显较低。此次梅州的致命鹅膏毒素含量明显比广州的致命鹅膏含量高^[13],而比云南的致命鹅膏含量低^[12],这可能是不同地点或不同个体的致命鹅膏毒素含量存在差异导致的。本次中毒的毒蘑菇汤和已煮的毒蘑菇样品中毒素含量很低,可能是患者在煮毒蘑菇时加入的水较多,大大稀释了汤中的毒素,这也是本次中毒患者症状不太严重的主要原因之一。本研究在所有患者的血液和尿液中均未检出 α -鹅膏毒肽,可能与采集时间、毒蘑菇的摄入量等因素有关。

本次事件发生的主要原因是患者对食用野生蘑菇中毒的相关知识缺乏,自我防范意识不足。因

此,建议当地政府部门应有针对性地加强当地常见毒蘑菇知识的宣传。加大禁采、禁食野生蘑菇的宣传力度,尤其是对农村地区村民、儿童等进行相关知识的普及,提高民众的食品安全意识,并引以为戒,尽量减少类似事件的发生。

参考文献

- [1] CHEN Z H, ZHANG P, ZHANG Z G. Investigation and analysis of 102 mushroom poisoning cases in Southern China from 1994 to 2012[J]. Fungal Diversity, 2014, 64(1): 123-131.
- [2] 罗宏. 鹅膏环肽毒素生源合成的研究进展[J]. 菌物学报, 2020, 39(9): 1651-1660.
- LUO H. Research advances in biosynthesis of *Amanita* cyclic peptide toxins[J]. Mycosystema, 2020, 39(9): 1651-1660.
- [3] 赵春艳, 王婷婷, 邹丽梅, 等. 鹅膏菌肽类毒素的研究进展[J]. 中国食用菌, 2014, 33(4): 9-11.
- ZHAO C Y, WANG T T, TAI L M, et al. Research progress on *Amanita* peptide toxins[J]. Edible Fungi of China, 2014, 33(4): 9-11.
- [4] 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: 187-188.
- CHENG Z H, YANG Z L, TULI G E, et al. Poisonous mushroom identification and poisoning prevention [M]. Bei Jing: Science Press, 2016: 187-188.
- [5] 邓旺秋, 李泰辉, 张明, 等. 华南常见毒鹅膏菌及其中毒事件分析[J]. 菌物学报, 2020, 39(9): 1750-1758.
- DENG W Q, LI T H, ZHANG M, et al. Analysis of common poisonous species of *Amanita* and their poisoning cases in South China[J]. Mycosystema, 2020, 39(9): 1750-1758.
- [6] 杨祝良. 中国鹅膏科真菌图志[M]. 北京: 科学出版社, 2015: 153-154.
- YANG Z L. Chinese *Amanita* Fungi Atlas [M]. Bei Jing: Science Press, 2015: 153-154.
- [7] 杨祝良. 中国真菌志 27卷 鹅膏科[M]. 北京: 科学出版社, 2005: 1-258.
- YANG Z L. Mycology of China. Volume 27. *Amanita* family [M]. BeiJing: Science Press, 2005: 1-258.
- [8] WHITE T J, BRUNS T, LEE S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics[J]. PCR Protocols. Amsterdam: Elsevier, 1990: 315-322.
- [9] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. Molecular Biology and Evolution, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [10] LI H J, ZHANG H S, ZHANG Y Z, et al. Mushroom poisoning outbreaks-China, 2021[J]. China CDC Weekly, 2022, 4(3): 35-40.
- [11] DENG W Q, LI T H, XI P G, et al. Peptide toxin components of *Amanita exitialis* basidiocarps[J]. Mycologia, 2011, 103(5): 946-949.
- [12] 钟加菊, 姚群梅, 李海蛟, 等. 云南楚雄致命鹅膏中环肽毒素的检测与分析[J]. 菌物学报, 2020, 39(9): 1766-1773.
- ZHONG J J, YAO Q M, LI H J, et al. Detection and analysis of cyclopeptides in *Amanita exitialis* from Chuxiong prefecture, Yunnan Province[J]. Mycosystema, 2020, 39(9): 1766-1773.
- [13] 邓旺秋, 李泰辉, 宋斌, 等. 致命鹅膏不同生长期 α -amanitin 毒素的含量变化[J]. 菌物学报, 2006, 25(1): 109-114.
- DENG W Q, LI T H, SONG B, et al. Content variety of α -amanitin in defferent growing periods of *Amanita exitialis* [J]. Mycosystema, 2006, 25(1): 109-114.