

食物中毒

奥米粉褶蕈中毒事件调查分析

吴春蕾¹, 黄信有¹, 张芝平¹, 林锋¹, 高建龙², 黄明晖², 杨铭建¹, 张永开¹

(1. 南平市疾病预防控制中心, 福建 南平 353000; 2. 邵武市疾病预防控制中心, 福建 邵武 354000)

摘要:目的 通过对福建省邵武市误食毒蕈引起的两起中毒事件进行现场流行病学调查及实验室毒蕈物种鉴定, 为此类中毒事件的及时处置提供科学依据。方法 收集事件病例资料、现场流行病学调查资料和可疑毒蕈样品, 进行形态学和内转录间隔区(ITS)分子生物学鉴定, 并对事件进行分析处置。结果 2018年9月1~2日, 福建省邵武市发生两起毒蕈中毒事件, 大埠岗镇1名村民和肖家坊镇2名村民采食毒蕈, 于餐后0.5~1.5 h出现恶心、呕吐、大量出汗、头晕、腹痛、腹泻等症状, 送医后诊断为毒蕈中毒, 以胃肠炎及胆碱中毒为主要表现。入院后及时给予对症支持治疗, 3~4 d出院。毒蕈样品经形态学和分子生物学鉴定, 确认为奥米粉褶蕈(*Entoloma omiense*)。结论 两起毒蕈中毒事件均因误食奥米粉褶蕈导致, 应加强对此类毒蕈的研究, 预防中毒事件发生。

关键词: 奥米粉褶蕈; 毒蕈中毒; 流行病学调查; 分子生物学鉴定

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2021)01-0114-04

DOI: 10.13590/j.cjfh.2021.01.022

Investigation and analysis on the poisoning of *Entoloma omiense*WU Chunlei¹, HUANG Xinyou¹, ZHANG Zhiping¹, LIN Feng¹, GAO Jianlong², HUANG Minghui², YANG Mingjian¹, ZHANG Yongkai¹

(1. Nanping Center for Disease Control and Prevention, Fujian Nanping 353000, China; 2. Shaowu Center for Disease Control and Prevention, Fujian Shaowu 354000, China)

Abstract: Objective To provide the basis scientific evidence for the timely response of this kind of poisoning incident by field epidemiological investigation and the identification of poisonous mushroom of two poisoning incidents in Shaowu, Fujian Province. **Methods** Case data, field epidemiological investigation data and suspected poisonous mushroom samples were collected for morphological and internal transcribed spacer molecular biological identification, and the event was analyzed and managed. **Results** On September 1 and 2, 2018, two mushroom poisoning incidents occurred in Dafugang town and Xiaojiafang town, Shaowu City, 3 villagers ate wild mushrooms and suffered from nausea, vomiting, dizziness, excessive sweating, abdominal pain, diarrhea and other symptoms within 0.5 to 1.5 hours after meals. They were sent to the hospital for treatment and diagnosed as mushroom poisoning. Gastroenteritis and choline poisoning were the main poisoning manifestations. After admission, patients were given symptomatic support treatment and discharged from the hospital at 3-4 d. The sample of poisonous mushroom was identified as *Entoloma omiense* by morphology and molecular biology. **Conclusion** Two poisoning incidents were caused by eating *Entoloma omiense* by mistake. The research on this kind of mushroom should be strengthened to prevent the occurrence of this kind of poisoning.

Key words: *Entoloma omiense*; toxic mushroom poisoning; epidemiological investigation; molecular biological identification

毒蕈又称为毒蘑菇,是指大型真菌的子实体被人或畜禽食用后能使其产生中毒反应的物种,少数属于子囊菌,绝大部分属于担子菌。据不完全统计,我国目前已确认的毒蕈有435种,全世界毒蕈达1000余种^[1]。南平市地处福建省北部,山区森林覆盖率高达77.99%,生物种类繁多,野生蕈资源丰富,农村群众素有采食野生蕈的习惯,导致误食有毒野生蕈中毒事件时有发生,2017年8月底福建省南平市一周内连续发生3起毒蕈中毒事件,导致3

人死亡,引起当地居民普遍关注^[2]。2018年9月福建省邵武市2天内连续发生两起毒蕈中毒事件,南平市疾病预防控制中心接报后迅速开展现场流行病学调查,采集可疑毒蕈样品,通过形态学和内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)分子生物学鉴定,确定两起毒蕈中毒事件均因误食奥米粉褶蕈(*Entoloma omiense*)导致。本研究对奥米粉褶蕈形态特征、中毒后临床症状及其救治进行总结,为今后该类毒蕈中毒事件处置提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品

编号为SW20180901-2的毒蕈样品来自中毒事件1[2018年9月1日,邵武市大埠岗镇某村村民黄

收稿日期:2020-11-11

基金项目:南平市自然科学基金联合资助项目(2019J33)

作者简介:吴春蕾 女 医师 研究方向为食品安全风险监控

E-mail: 534819174@qq.com

通信作者:黄信有 男 副主任医师 研究方向为食品安全风险监控

测 E-mail: 309479844@qq.com

某(女,78岁)误食自采野生毒蕈中毒],编号为SW20180902-3的毒蕈样品来自中毒事件2[2018年9月2日,邵武市肖家坊镇某村2名为祖孙关系的村民陈某(女,63岁)及肖某(女,17岁),误食自采野生毒蕈中毒],由知情者带领调查人员到事件发生地采集同种样品,并带回由误食的患者确认。

1.1.2 主要仪器与试剂

ABI Veriti96孔梯度聚合酶链式反应(PCR)仪(美国应用生物系统),Bio-Rad脉冲场电泳凝胶成像系统(英国伯乐生命科学研究),DYY-6C电泳仪(北京六一生物科技有限公司),IKAMS3基本型圆周振荡器,FA1004B电子天平,DGG-9140B电热恒温鼓风干燥箱,G80F25MSXLVII-ZM(M0)格兰仕光波炉,BX41奥林巴斯显微镜(日本奥林巴斯株式会社)。

Phire Plant Direct PCR Kit试剂盒(美国赛默飞世尔),GoldView II核酸染料(北京索莱宝科技有限公司),DL2000 DNA Marker[宝日生物技术(北京)有限公司],6×甘油凝胶上样缓冲液、TAE Buffer、Agarose B,Low EEO琼脂糖粉均购于生工生物工程(上海)股份有限公司。真菌通用型引物ITS5(GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG)和ITS4(TCCTCCGCTTATTGATATGC)由铂尚生物技术(上海)有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 流行病学调查

应用个体重点调查及描述性流行病学调查方法,详细调查两起事件患者进食史,判定可疑食物,获取患者毒蕈食用量、发病时间、临床表现、生化指标等信息。

1.2.2 毒蕈物种鉴定

1.2.2.1 形态学鉴定

对采集地现场进行调查,采集两起事件经患者确认的毒蕈,进行拍照并编号,记录寄主、采集日期、地点和海拔等信息。观察子实体大小、形状、颜色、质地等宏观特征以及担孢子等微观结构。

1.2.2.2 分子生物学鉴定

使用Phire Plant Direct PCR Kit试剂盒对蘑菇干燥样品进行DNA提取和PCR产物扩增。试验方法参考李海蛟等^[3]的方法。取约0.05g蘑菇干燥样品,用手术刀切碎后置于1.5mL离心管中,加入50μL稀释缓冲液裂解,室温孵育5min,所得上清液用作为后续试验的扩增模板。采用引物ITS5和ITS4^[4]对样品的ITS序列进行扩增。30μL反应体系:15μL 2×PCR Buffer,0.6μL Phire II,11.4μL H₂O,1μL ITS5,1μL ITS4,1μL上清液作为模板。扩增反应程序为:98℃预变性5min;98℃变性5s,

58℃复性5s,72℃延伸5s,35个循环后72℃延伸10min;4℃保温。反应结束后,取3μL PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测15min并在260nm紫外灯下观察条带单一性,最终将电泳条带单一、明亮、片段大小约650bp的样品送交铂尚(上海)生物技术有限公司测序。

所测得到的ITS序列与美国生物技术信息中心(NCBI)的GenBank数据库进行比对,可得到序列相似性和相似的物种名称等信息。如二者ITS序列的相似性>96%,则初步确定待测样品与数据库中的目标蕈类为同种关系;如序列相似性≤93%,则鉴别为非同种关系,为种以上的关系;如序列相似性>93%~96%,需做进一步分析。下载相似率高的物种ITS序列及相似物种的ITS序列,以变绿红菇(*Russula virescens*)为外组群,建立系统发育树。通过邻接(NJ)法进行系统发育树的建立,用Bootstrap法对系统发育树进行检验,1000次重复,从而对样品的种属进行最终鉴别。

2 结果

2.1 流行病学调查结果

2.1.1 事件经过

事件1:2018年9月1日17时30分,邵武市大埠岗镇某村村民黄某独自在家进食晚餐,食谱为米饭、猪肉及野生蘑菇汤(所有食材当餐且新鲜、未发现异味)。餐后约1.5h出现恶心、呕吐8次、腹泻2次伴头晕等症状,20时30分就诊于邵武市立医院,入院时体温、脉搏均正常,神志清楚,呼吸平顺,口唇无紫绀,咽无充血,心率正常、律齐,心音正常,生化检测肝功能、肾功能及心肌相关生化指标未见明显改变,医生诊断食入毒蕈中毒,立即给予患者洗胃、抑酸、保肝、补液、营养支持等对症处理,患者9月5日康复出院。

事件2:2018年9月2日8时30分,邵武市肖家坊镇某村村民陈某及其孙女肖某共同进食早餐,食谱为生黄瓜、豆腐、空心菜、生板栗、腌萝卜、米饭及炒蘑菇(陈某仅食用野生蘑菇,肖某食用食谱中所有菜品,所有食材当餐且新鲜、未发现异味),0.5h后陈某出现恶心、呕吐5次、腹泻10次、大量出汗等症状,肖某出现恶心、呕吐7次、腹泻3次伴腹痛等症状。12时2名患者就诊于邵武市立医院,入院时体温、脉搏均正常,神志清楚,呼吸平顺,口唇无紫绀,咽无充血,心率正常、律齐,心音正常,生化检测肝功能、肾功能及心肌相关生化指标未见明显改变,医生诊断食入毒蕈中毒,立即给予患者洗胃、抑酸、保肝、补液、营养支持等对症处理于9月5日康复出院。

2.1.2 流行病学特征

两起事件共3名患者,均为女性,最小年龄17岁,最大年龄78岁;1名患者餐后1.5h发病,2名患者餐后0.5h发病,平均潜伏期0.5h,罹患率100%。

2.1.3 可疑野生毒蕈来源及加工过程

事件1:患者黄某于9月1日早晨自采于家后山竹林中的棕黄色长脚毒蕈500g,用水煮汤后食用约250g,饮用汤约50mL。事件2:患者陈某及肖某2人于9月2日5时自采于肖家坊镇村中心小学后山上的黄色长柄毒蕈2000g,清炒后,陈某食用约500g,肖某食用约200g。

2.2 毒蕈鉴定

2.2.1 形态学鉴定结果

两起事件采集到的毒蕈样品均生长于竹林与阔叶林混交山地阳坡,群生于地上。现场采集经患者确认的毒蕈的样品形态,菌盖宽2.0~4.2cm,初为圆锥形,后斗笠形或近平展形,中部有凸起颜色较深,灰黄色、黄褐色,具明显条纹,光滑,边缘整齐。菌肉薄,白色或淡黄色,无明显气味。菌褶宽达4~8mm,直生,较密,薄,淡粉黄色。菌柄长4~12cm,直径2~3mm,圆柱形,基部稍有膨大且具有白色菌丝体,白色至淡黄色,中空(见图1)。样品烘干后,显微镜下担孢子,5~6角,多5角,多具有尖凸,孢子直径(10~13)μm×(9~12)μm,等径至近等径,光滑,担子长(24.0~48.5)μm、宽(11.5~12.0)μm,形状为棒状,基部未观察到锁状联合(见图2),其形态学特征与文献报道^[5]的奥米粉褶蕈(*Entoloma omiense*)特质一致,初步鉴定为奥米粉褶蕈。

2.2.2 rDNA-ITS 分子条形码鉴定

经检索,可疑毒蕈样品SW20180901-2(事件1)的ITS序列与GenBank数据库中的3个奥米粉褶蕈亚种序列间的相似性达到99%以上,SW20180902-3(事件2)的ITS序列与GenBank数据库中的2个奥米粉褶蕈亚种序列间的相似性达到99%以上,与



图1 奥米粉褶蕈宏观结构子实体

Figure 1 Macrostructure basidiomata of *Entoloma omiense*

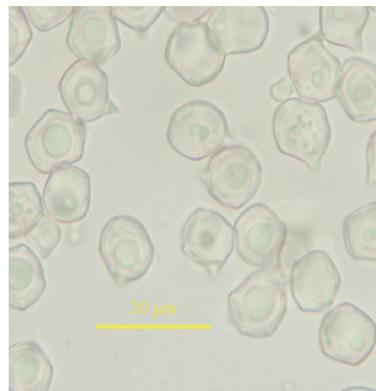


图2 奥米粉褶蕈微观结构担孢子

Figure 2 Microstructure basidiospore of *Entoloma omiense*

1个亚种相似性达到98%以上(见表1),因此初步确定其为奥米粉褶蕈。系统发育树显示,样品SW20180901-2,SW20180902-3序列与表1中所有3个奥米粉褶蕈的ITS序列处在同一分支,且支持率为100%(见图3),因此确认引起两起中毒事件的毒蕈为奥米粉褶蕈。

3 讨论

通过流行病学调查、临床特征分析、形态学鉴定和分子生物学鉴定,确定两起毒蕈中毒事件均为以胃肠炎型为主要表现的奥米粉褶蕈中毒事件。

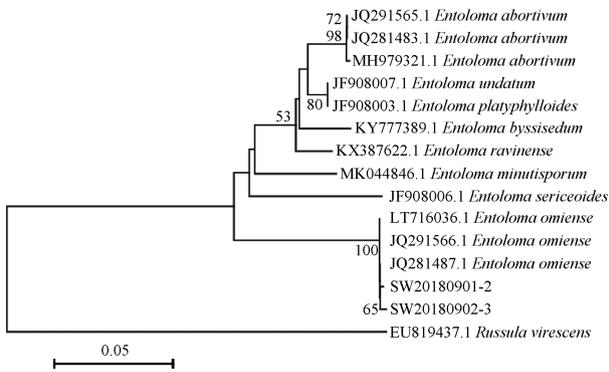
粉褶蕈属[*Entoloma* (Fr.) Kumm.]属于伞菌目

表1 用于系统发育树分析的部分物种名称和ITS片段相似性信息

Table 1 ITS sequences that were applied to build phylogenetic tree

分类	物种	相似性/%		凭证码	登录号
		SW20180901-2	SW20180902-3		
内群	<i>Entoloma omiense</i>	99.84	99.02	ZRL20151352_2	LT716036.1
	<i>Entoloma omiense</i>	99.83	99.00	GDGM27229	JQ291566.1
	<i>Entoloma omiense</i>	99.66	98.81	GDGM27563	JQ281487.1
	<i>Entoloma abortivum</i>	84.97	85.24	GDGM27313	JQ291565.1
	<i>Entoloma abortivum</i>	84.97	85.24	HMJAU1955	JQ281483.1
	<i>Entoloma undatum</i>	85.02	85.11	16854	JF908007.1
	<i>Entoloma platyphylloides</i>	85.02	85.11	14740	JF908003.1
	<i>Entoloma byssisedum</i>	84.74	85.21	—	KY777389.1
	<i>Entoloma abortivum</i>	84.49	84.76	NAMA2017-114	MH979321.1
	<i>Entoloma ravinense</i>	84.53	84.63	—	KX387622.1
	<i>Entoloma minutisporum</i>	84.41	84.68	ST258	MK044846.1
	<i>Entoloma sericeoides</i>	84.26	84.49	16686	JF908006.1
	外族群	<i>Russula virescens</i>	93.30	93.30	JMP0079

注:—表示无该项信息



注:仅显示支持率大于 50% 的分支

图 3 基于 ITS 序列构建的系统发育树

Figure 3 Phylogenetic tree based on ITS sequence

(Agaricales)粉褶蕈科(Entolomataceae),由 Kummer 于 1871 年建立,目前全世界发表的种类有 1 000 多种^[6]。粉褶蕈属是粉褶蕈科中最大的一个属,其种类是粉褶蕈科中最早被认识的类群,但亚洲各国对粉褶蕈的研究相对滞后,有关研究大多集中于美洲、欧洲、大洋洲^[7-9],我国对其研究起步较晚,且早期研究多为零星的报道,散见于地区性真菌志中。2008 年李传华等^[10]简要地对我国粉褶蕈种类学名、汉语、生境、分布进行了整理和修订,统计了我国 121 种粉褶蕈,此后李传华等^[11]于 2009 年报道了 1 个新种,何晓兰等^[12-13]于 2010 年和 2016 年分别记录了 3 个和 4 个国内新记录种。奥米粉褶蕈为粉褶蕈属的其中一种,相关研究较少,据报道日本和我国广东省、海南省、江西省、云南省、贵州省^[14]以及中国香港^[15]、中国台湾^[16]等地均有分布。偶有群众误食该菌引起中毒事件发生,2016 年 6 月国内首次有关该毒蕈中毒事件的记录^[5],福建省尚未有相关报道,本次为福建省首次报道因误食奥米粉褶蕈出现中毒的事件。粉褶蕈属广泛遍布于世界各地,从赤道到极地,从高山到盆地都有粉褶蕈属的分布,少数寄生于其他植物,也有个别种类可能和植物形成菌根。相关调查^[7,17]显示奥米粉褶蕈在夏、秋季生于阔叶林中地上,单生或群生^[10],本次研究所采集的 2 份样品均于 9 月初群生于竹林与阔叶林混交山地中。

粉褶蕈属含有较高的毒蕈碱,误食后发病快,通常在 15 min~2 h 发病,发病时间的快慢取决于食用数量和毒蕈中毒蕈碱的含量。临床症状特征表现为多涎、流泪、出汗、排尿、腹泻、腹痛及呕吐,常伴有心搏过缓、呼吸急促、瞳孔缩小、视力模糊,甚至出现幻视等症状^[5],本次调查中 3 位患者发病的潜伏期为 0.5~1.5 h 且出现恶心、呕吐、大量出汗、头晕、腹痛、腹泻等症状,与粉褶蕈属中毒临床症状一致。

在我国毒蕈中毒事件发生频率高且后果严重,

已成为我国食物中毒事件中导致死亡的主要原因,但是对于毒蕈中毒事件中的毒蕈种类并不完全清楚。在我国 2010—2014 年各省报告的毒蕈中毒事件中,进行毒蕈鉴定事件仅占 7.4%^[18]。而不同毒蕈可以造成不同类型的损害,因此开展准确的物种鉴定,对中毒类型的确认和对中毒患者进行及时有效的救治显得尤为重要,对临床救治具有重要的指导意义。本研究采用形态学鉴定结合现代分子生物学手段(rDNA-ITS),确定两起毒蕈中毒事件均因误食奥米粉褶蕈导致,为今后此类中毒事件的处置提供依据。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 林锋,庄东铭,黄信有,等. 应用 rDNA-内转录间隔区分子条形码技术调查福建省亚稀褶黑菇中毒事件[J]. 中国食品卫生杂志, 2019, 31(3): 276-280.
- [3] 李海蛟,孙承业,乔莉,等. 青褶伞中毒的物种鉴定、中毒特征及救治[J]. 中华急诊医学杂志, 2016, 25(6): 739-743.
- [4] INNIS M A, GELFAND D H, SNINSKY J J, et al. PCR protocols, a guide to methods and applications [M]. San Diego: Academic, 1990: 315-322.
- [5] 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.
- [6] KIRK P M, CANNON P F, MINTER D W, et al. Dictionary of the fungi [M]. Ainsworth & Bisby. Wallingford: CAB International, 2008: 1-640.
- [7] NOORDELOOS M E. Entoloma s. l. fungi Europaei [J]. Giovanna Biella, 1992, 5: 1-760
- [8] HORAK E. Entoloma in south America [J]. Sydowia Horn, 1977, 30: 40-111.
- [9] HORAK E. Entoloma (Agaricales) in Indomalaya and Australasia [J]. Beihefte Zur Nova Hedwigia, 1980, 65: 1-352.
- [10] 李传华,邓旺秋,宋斌,等. 中国粉褶蕈科已知种类及分类问题[J]. 菌物研究, 2008, 6(3): 136-154, 158.
- [11] 李传华,李泰辉. 海南岛粉褶蕈属(粉褶蕈科,伞菌目)一新种[J]. 菌物学报, 2009, 28(5): 641-643.
- [12] 何晓兰,李泰辉,姜子德. 中国粉褶蕈属白色种类 3 个新记录种[J]. 菌物学报, 2010, 29(6): 920-923.
- [13] 何晓兰,李泰辉,彭卫红,等. 采自东北地区的四个粉褶蕈属中国新记录种[J]. 菌物学报, 2016, 35(2): 222-228.
- [14] 何晓兰. 中国粉褶蕈属分类及粉褶蕈科分子系统学研究[D]. 广州:华南农业大学, 2012.
- [15] 张树庭,卯晓岚. 香港毒菌[M]. 香港:中文大学出版社, 1995:213-216.
- [16] 周文能,张东柱. 野菇图鉴:台湾四百种常见大型真菌图鉴[M]. 台北:远流出版事业股份有限公司, 2005: 82-91.
- [17] NOORDELOOS M E. Entoloma s. l. fungi Europaei[J]. Edizione Candusso, 2004, 5: 761-1378.
- [18] 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.