

青褶伞中毒的物种鉴定、中毒特征及救治

李海蛟 孙承业 乔莉 章轶哲 孙健 张宏顺 周静 龙鑫 马沛滨

100050 北京, 中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所(李海蛟、孙承业、章轶哲、孙健、张宏顺、周静、龙鑫、马沛滨); 210029 南京, 南京医科大学第一附属医院, 江苏省人民医院急诊科(乔莉)

通信作者: 马沛滨, Email: mapbnpc@gmail.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2016.06.011

【摘要】目的 探索褶伞属青褶伞的物种鉴定, 总结青褶伞中毒诊断及救治方法, 为该蘑菇造成的中毒事件处理和中毒患者救治提供借鉴。**方法** 结合中毒案例, 收集流行病学、临床诊断救治资料和可疑毒蘑菇样本, 对毒蘑菇样本进行形态学和分子生物学鉴定, 并对青褶伞造成的中毒特征及救治进行梳理。**结果** 2 名中毒患者食用了不等量的, 自行采集的白色野生蘑菇; 发病潜伏期约 4 h。主要临床表现为恶心、呕吐、腹痛、腹泻(呈稀水样便), 一名患者伴有谷丙转氨酶和谷草转氨酶的升高, 另一名患者呕吐少量淡红色液体, 并在第 2 天伴有淡血性稀水便。给予足量补液、激素、保肝、青霉素抗感染等对症支持治疗, 3 d 后全部治愈出院。毒蘑菇样本通过形态学结合分子生物学方法鉴定为青褶伞(*chlorophyllum molybdites*)。**结论** 该中毒事件是一起由青褶伞引起的经口中毒, 青褶伞菌为有毒蘑菇, 主要引起消化道刺激性改变, 病情较轻, 病程短; 形态学结合分子生物学方法对青褶伞的物种鉴定是识别青褶伞的有效方法。

【关键词】 毒蘑菇; 青褶伞; 物种鉴定; 救治

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(31501814)

Species identification, poisoning symptoms and medical treatment of *chlorophyllum molybdites* Li Haijiao, Sun Chengye, Qiao Li, Zhang Yizhe, Sun Jian, Zhang Hongshun, Zhou Jing, Long Xin, Ma Peibin

National Institute of Occupational Health and Poison Control, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China (Li HJ, Sun CY, Zhang YZ, Sun J, Zhang HS, Zhou J, Long X, Ma PB); Jiangsu Province Hospital, The First affiliated Hospital with Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China (Qiao L)

Corresponding author: Ma Peibin, Email: mapbnpc@gmail.com

【Abstract】Objective To study species identification, poisoning symptoms and medical treatment of *chlorophyllum molybdites* in order to provide a guideline and proper treatment. **Methods** Based on the data of epidemiological investigation, clinical treatment data and suspicious poisonous mushroom samples collected of present patients. The collected mushroom specimen was identified by morphological combined molecular methods, and the poisoning symptoms and medical treatment of *C. molybdites* were summarized systematically. **Results** Epidemiological investigation showed that two patients ate some white wild mushrooms collected by themselves. About 4 h after mushroom eaten, they had nausea, vomiting, stomachache and diarrhea (watery). Glutamate-pyruvate transaminase and serum glutamic-oxaloacetic transaminase in serum increased in one patient, and the other patient vomited a little faint blood fluid, followed by faint blood fluid and watery diarrhea on the second day. After treatment with adequate rehydration, corticosteroid, liver protection and anti-infection using penicillin, both patients recovered after 3 days. The mushroom eaten by the patients was *C. molybdites*, as evidenced by morphological and molecular analysis. **Conclusions** The poisoning cases in the present study were caused by *C. molybdites*,

confirmed by morphological and molecular analysis which is suitable for species identification. *Chlorophyllum molybdites* is a poisonous mushroom, which mainly causes digestive illness, and the illness is usually mild with short disease course.

【Key words】 Poisonous mushrooms; *Chlorophyllum molybdites*; Species identification; Medical treatment

Fund program: National Nature Science Foundation of China Youth Science Foundation (31501814)

青褶伞 [*chlorophyllum molybdites* (G. Mey.) massee] 又称大青褶伞、大青褶皱伞, 在南方一些地区被叫作青褶环伞、铅绿褶菇、绿孢环柄菇、毒绿褶菇, 是一种大型真菌, 隶属于真菌界 (fungi), 担子菌门 (basidiomycota), 伞菌纲 (agaricomycetes), 伞菌目 (agaricales), 伞菌科 (agaricaceae), 褶伞属 (*chlorophyllum*)。该菌广泛分布于世界各地的温带和亚热带地区, 在中国主要分布于广东、海南、湖南、江苏、四川、西藏、香港和云南等省份, 于夏秋季生长在草坪、阔叶林或云南松等地上^[1-3]。

青褶伞可引起胃肠炎型中毒, 在北美被认为是最常见的被人误食的毒蘑菇种类之一^[4-5]。中毒潜伏期为 1~6 h, 大部分中毒患者在进食 1~3 h 后会出现恶心、呕吐、腹痛、腹泻, 大便呈稀水样便, 部分出现血性稀水便, 虽然部分患者症状十分严重, 但到目前为止尚无死亡病例报道。

青褶伞与一些可食用的蘑菇形态相似, 也易与部分剧毒种的鹅膏菌混淆, 导致过度治疗。本文通过对发生在南京的一起涉及 2 人的中毒事件处理, 总结了青褶伞在国内分布、建立鉴定方法, 同时对 2 例患者资料进行了汇总和分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料

江苏省南京市中毒 2 人, 均为女性, 年龄分别为 51 岁和 36 岁, 职业为工人, 以及从市区居民小区内采集的患者食用的蘑菇。

1.2 流行病学调查

江苏省人民医院 (南京医科大学第一附属医院) 急诊科经治医师分别对患者及其家属进行了访谈, 详细调查了其可疑暴露情况和接触经过, 逐步锁定可疑餐次及可疑食品, 结合临床特征分析, 高度怀疑食用野生不明蘑菇引发该起突发中毒事件; 医院同时提供了中毒患者的主要临床表现、诊断、治疗以及病情变化等情况, 并做相应摘录和分析。

1.3 毒物鉴定

中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所将接收到的疑似毒蘑菇进行拍照、记录, 并编号为 140703-01。利用便携式鼓风干燥机将标本在 45°C 条件下彻底干燥, 进行形态学和分子生物学鉴定。

1.3.1 形态学鉴定 主要包含宏观形态和显微结构观察。宏观形态主要观察子实体颜色、大小、形状、质地、菌盖表面特征、菌褶特征 (颜色、生长状态)、菌柄特征 (颜色、长短、粗细、是否被绒毛、是否有菌幕)、菌环特征、是否有特殊气味和味道、寄主及采集日期和地点等。显微结构主要观察各部位菌丝的有无锁状联合、分枝状况、排列状况等; 观察子实层的主要特征包括担子的形状、大小、担子梗的数目及长短、囊状体的有无、形状及大小; 观察担孢子的主要特征包括形状、大小、在各种浮载剂中的反应。

1.3.2 分子生物学鉴定 使用 The Phire Plant Direct PCR 试剂盒 (Finnzymes Oy, Finland) 对蘑菇干标本进行 DNA 提取和 PCR 产物扩增。取少量干燥的蘑菇标本置于 1.5 mL 离心管中, 加入 50 μ L 稀释缓冲液裂解, 室温孵育 5 min, 所得上清液用于 PCR 反应体系的扩增模板。

采用引物 ITS5 (GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G) 和 ITS4 (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC)^[6] 对该标本的转录间隔区 (internal transcribed spacer, ITS) 序列进行扩增。30 μ L 反应体系中含 1 μ L 上清液。扩增反应程序为: 98°C 预变性 5 min; 98°C 变性 5 s, 58°C 复性 5 s, 72°C 延伸 5 s, 40 个循环后 72°C 延伸 10 min, 4°C 保温。反应结束后, 取 3 μ L PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 将电泳条带单一明亮、片段大小约 650 bp 的样品送交上海生工生物工程股份有限公司测序。

将测得的 ITS 序列与网上下载的序列 (表 1) 用 Clustalx1.83 进行比对, 用 BioEdit 7.0.5.3 进行手工校对^[7-8]。系统发育树的构建采用最大简约法, 使用 PAUP * 4.0b10 软件^[9]。在最大简约性分析法中, 所有参与分析序列上的位点均作为等权

处理,位点上的空格视为缺失。Max-trees 设为 5 000,其他参数选择默认值,采用启发式搜索进行 1 000 次自举分析^[10]。

表 1 用于系统发育树分析鉴定青褶伞的 ITS 序列信息

Table 1 Informations of ITS sequences used in the phylogenetic analysis for identifying *chlorophyllum molybdites*

Taxa	Voucher	ITS
Ingroup		
<i>Chlorophyllum agaricoides</i>	AD3140	AF495079
<i>C. agaricoides</i>	C. L. Ovrebø 4118	AY243616
<i>C. agaricoides</i>	H. Knudsen 99. 376	AY243614
<i>C. agaricoides</i>	H. Knudsen 99. 376	AY243615
<i>C. agaricoides</i>	--	AF482837
<i>C. agaricoides</i>	--	AY245552
<i>Chlorophyllum alborubescens</i>	Maruyama	AY243610
<i>Chlorophyllum brunneum</i>	--	AY081227
<i>C. brunneum</i>	--	AY083208
<i>C. brunneum</i>	--	AY083207
<i>Chlorophyllum hortense</i>	MFLU121783	KJ524554
<i>C. hortense</i>	MFU090005	KJ524555
<i>C. hortense</i>	--	HM488765
<i>Chlorophyllum humei</i>	--	U85319
<i>Chlorophyllum globosum</i>	26-V III-1999	AY243619
<i>C. globosum</i>	D. C. Mossebo	AF482842
<i>C. globosum</i>	H. Neda N421	AF482842
<i>C. globosum</i>	MFLU121815	KJ524553
<i>chlorophyllum molybdites</i>	140703-01	KU757474 ^a
<i>C. molybdites</i>	AEF1097	AF482836
<i>C. molybdites</i>	MFLU121772	KJ524557
<i>C. molybdites</i>	E. C. Vellinga 1646	AY243617
<i>C. molybdites</i>	MFLU121765	KJ524559
<i>C. molybdites</i>	MFLU121775	KJ524558
<i>C. molybdites</i>	NY-EFM891	U85337
<i>C. molybdites</i>	R. W. Kerrigan 1920	AY243618
<i>C. molybdites</i>	--	U85309
<i>C. molybdites</i>	--	AY081243
<i>C. molybdites</i>	--	AY083209
<i>Chlorophyllum neomastoideum</i>	TNS Kasuya B28	KF551251
<i>C. neomastoideum</i>	--	AF482845
<i>C. nothorachodes</i>	--	AF482855
<i>Chlorophyllum rhacodes</i>	LE-257595	JQ683124
<i>C. rhacodes</i>	JFA5532	AY081237
<i>C. rhacodes</i>	ecv2112	AY081236
<i>C. rhacodes</i>	--	AY081240
<i>Chlorophyllum olivieri</i>	ecv2649	AY081242
<i>C. olivieri</i>	--	AY081241
<i>Chlorophyllum sp.</i>	A8	JX43465
<i>Chlorophyllum sp.</i>	AZ80	HQ020416
<i>Chlorophyllum sp.</i>	B3	JX434652
<i>Leucoagaricus medioflavoides</i>	MCVE: 2324	GQ329055
Outgroup		
<i>Leucoagaricus barss</i> II	2342	AF295931
<i>Leucoagaricus meleagris</i>	--	AF482867

注:^a 为本研究得到的序列,其他序列来自 GenBank

2 结果

2.1 流行病学调查

2.1.1 基本情况 2014 年 7 月 1 日 19:30 左右,南京市某小区居民 2 人,共同进食了在自己居住小区草坪上采摘的野生蘑菇(白色,鸡蛋大小),2 名患者均为女性,分别为 51 岁和 36 岁;其中 51 岁患者约食用了 10 个蘑菇,36 岁患者食用了 16 个蘑菇,约 23:30 左右,两人接连出现恶心、呕吐、腹痛、腹泻等症状,51 岁患者伴有黑朦、胸闷、出冷汗等,潜伏期约 4 h。两名患者均为工人。两人于当日 23:50 到江苏省人民医院(南京医科大学第一附属医院)急诊科就诊,于 7 月 4 日康复出院。

2.1.2 临床表现及救治情况 两位患者就诊后,进行了血、尿、便常规,电解质、肝功能、肾功能、血脂分析、肌酸激酶等血生化检测,并进行了凝血功能、hs-Tn 高敏肌钙蛋白 T 和 MyoI 肌红蛋白检测。患者主要临床表现为恶心、呕吐、腹痛、腹泻(呈稀水样便),51 岁患者食用毒蘑菇 5 h 后谷丙转氨酶和谷草转氨酶(干化学法,89.50 U/L、107.30 U/L(女性正常参考值分别为:7~40 U/L、13~35 U/L)呈一过性升高,并于 18 h 后恢复正常,其中,谷草转氨酶于 59 h 复查略高(55.8 U/L);而食用量较大的 36 岁患者呕吐少量淡红色液体,7 月 2 日曾有淡血性稀水便,后再次转为黄色稀水便;两位患者均无头晕、头痛、晕厥、心慌等症状。经给予足量补液、糖皮质激素、保肝、青霉素抗感染等对症支持治疗,两位患者 7 月 2 日以后未再有呕吐、腹泻,继续留观 1 d 后,于 7 月 4 日康复出院。

2.2 毒蘑菇标本鉴定

2.2.1 形态学鉴定 观察标本宏观和微观结构,鉴定为青褶伞(*chlorophyllum molybdites*),如图 1A。

宏观结构:子实体中等至大型。菌盖直径 8~17 cm,初半球形,成熟后近平展,有时中央具钝脐突,表面白色,具褐色至黑褐色鳞片;菌褶离生,较密,不等长,幼时白色,成熟后浅绿色至绿褐色,干燥后蓝绿色至灰绿色;菌柄长 10~18 cm,直径 0.8~1.5 cm,圆柱形,近白色,近基部稍膨大;菌环上位,多宿存,双层,上表面呈白色,下表面呈褐色。

显微结构：担子棍棒状，多具 4 个小梗，基部无锁状联合，(27 ~ 36) μm × (11 ~ 14) μm；担孢子宽椭圆形至宽杏仁形，厚壁，光滑，浅橄榄绿色，拟糊精反应，平截，具芽孔，(9 ~ 10) μm × (6.5 ~ 8) μm。担子果各部位皆无锁状联合。



图 1 青褶伞的子实体照片 (照片由患者提供) A-B: 幼时子实体照片 C-D: 菌盖展开后子实体照片

Fig 1 Basidioma of *chlorophyllum molybdites* (offered by one patient) . A-B: young basidioma of *C. molybdites*, C-D: mature basidioma of *C. molybdites*

2.2.2 分子生物学鉴定 图 2 为应用 ITS 序列构建的青褶伞系统发育树拓扑结构图。可以看到，共 43 个单元，763 个特征位点，其中包括 443 个恒定特征，69 个无简约信息可变特征，以及 251 个简约信息特征。简约法共得到 1 个 MP 树，系统发育树的 TL 为 646，CI 为 0.715，RI 为 0.888，RC 为 0.635，HI 为 0.285。此外，系统发育结果表明，检测样本 140703-01 与青褶伞聚类到同一分枝，获得极高支持率 (图 2，MP = 96%)。因此鉴定该标本为青褶伞。

3 讨论

经过系统流行病学调查、临床特征分析和实验室鉴定检测分析，基本明确本次毒蘑菇中毒事件为以消化系统症状伴一过性肝功能损害为主要表现的

一起青褶伞中毒事件。

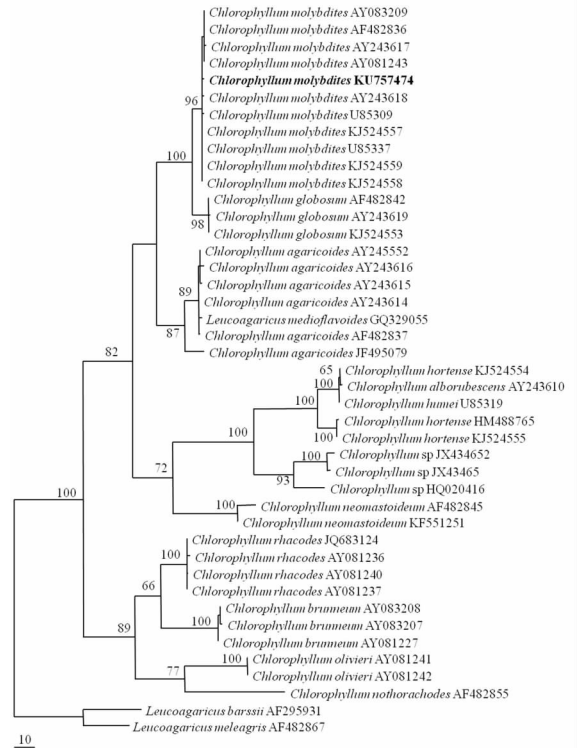


图 2 基于 ITS 序列构建的青褶伞系统发育树，仅高于 50% 的支持率被标注于分枝上 (黑体突出显示的为事件标本序列)

Fig 2 Phylogenetic tree of *chlorophyllum molybdites* inferred from maximum parsimony (MP) analysis based on ITS dataset Only maximum parsimony bootstraps (PB) over 50% are reported on the branches (Sequence from poisoning case specimen was in bold)

目前，国内共报道过 5 种褶伞属真菌，其中，青褶伞是最常见的毒蘑菇种类^[1-2]，能够引起强烈的胃肠道反应，但至今未报道过因误食该种而引起的死亡事件。青褶伞的主要鉴别特征为菌褶成熟后呈蓝绿色，孢子浅橄榄色，褶缘囊状体宽棒状，极易与可食的粗鳞青褶伞 (*chlorophyllum rhacodes*) 相混淆，但后者菌褶成熟后呈白色，且孢子无色^[1]。

由于青褶伞具有菌环，有时会将其与剧毒的鹅膏 (*amanita*) 种类相混淆，尤其是白色的剧毒鹅膏种类，如致命鹅膏 (*amanita exitialis*)、黄盖鹅膏白色变种 (*A. subjunquillea* var. *alba*)、淡红鹅膏 (*A. pallidosea*) 和裂皮鹅膏 (*A. rimosa*) 等，但值得注意的是，几种剧毒鹅膏在菌柄基部具有菌托，且菌环一般为膜质，单层，菌褶也为白色至奶油色^[11-12]。

参 考 文 献

- [1] Ge ZW, Yang ZL. The genus *chlorophyllum* (Basidiomycetes) in China [J]. Mycotaxon, 2006, 96: 181-191.
- [2] 图力古尔, 包海英, 李玉. 中国毒蘑菇名录 [J]. 菌物学报, 2014, 33: 517-548. DOI: 10.13346/j.mycosystema.130256.
- Bao T, Bao HY, LI Y. A revised checklist of poisonous mushrooms in China [J]. Mycosystema, 2014, 33: 517-548.
- [3] 唐丽萍. 澜沧江流域高等真菌彩色图鉴 [M]. 昆明: 云南科技出版社, 2015, 1-297.
- Tang LP. Atlas of higher fungi from Lancang River Valley [M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press, 2015, 1-297.
- [4] Blayney D, Rosenkranz E, Zettner A. Mushroom poisoning from *chlorophyllum molybdites* [J]. West J Med, 1980, 132: 74-77.
- [5] Beug MW. An overview of mushroom poisonings in North America [J]. The Mycophile, 2004, 45 (2): 4-5.
- [6] Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, et al. (eds) PCR protocols, a guide to methods and applications [M]. // White TJ, Bruns TD, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. San Diego: Academic, 1990, 315-322.
- [7] Chenna R, Sugawara H, Koike T, et al. Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs [J]. Nucleic Acids Res, 2003, 31: 3497-3500. DOI: 10.1093/nar/gkg500.
- [8] Hall TA. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT [J]. Nucleic Acids Symp Ser, 1999, 41: 95-98.
- [9] Swofford DL. PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony, Version 4. 0b10. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, 2002.
- [10] Li HJ, Xie JW, Zhang S, et al. *Amanita subpallidorosea*, a new lethal fungus from China [J]. Mycol Prog, 2015, 12: 43. DOI: 10.1007/s11557-015-1055-x.
- [11] 杨祝良. 中国真菌志 (第二十七卷 鹅膏科) [M]. 北京: 科学出版社, 2005: 1-258.
- Yang ZL. Flora Fungorum Sinicorum Vol. 27 Amanitaceae [M]. Beijing: Science Press, 2005: 1-258.
- [12] 杨祝良. 中国鹅膏科真菌图志 [M]. 北京: 科学出版社, 2015, 1-213.
- Yang ZL. Atlas of the Chinese species of Amanitaceae [M]. Beijing: Science Press, 2015: 1-213.

(收稿日期: 2016-04-20)

(本文编辑: 何小军)

DPMAS 联合血浆置换、CVVH 救治裂皮鹅膏中毒重症患者

姜东辉 陈作红 汪明灯 张楠 王元元 胡敏红

214002 江苏省无锡, 无锡市第二人民医院重症医学科 (姜东辉、汪明灯、张楠、王元元); 410081 长沙, 湖南师范大学生命科学学院 (陈作红); 214062 江苏省无锡, 无锡市第四人民医院重症医学科 (胡敏红)

通信作者: 姜东辉, Email: jdhicu@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2016.06.012

Case report of DPMAS combined with plasma exchange and CVVH treatment in patients caused by *amanita rimosa* poisoning Jiang Donghui, Chen Zuohong, Wang Mingdeng, Zhang Nan, Wang Yuanyuan, Hu Minhong

ICU, Wuxi Second People's Hospital of Jiangsu province, Wuxi, 214002 China (Jiang DH, Wang MD, Zhang N, Wang YY); College of Life Sciences, Hunan Normal University, Changsha, 410081 China (Chen ZH); ICU, Wuxi Fourth People's Hospital of Jiangsu province, Wuxi, 214062 China (Hu MH)

Corresponding author: Jiang Donghui, Email: jdhicu@163.com

1 一般资料

患者余某, 男, 40岁, 外来务工人员, 因“口服毒蕈后腹泻、呕吐3d, 全身发黄1d”入院患者3d前口服自行采摘的鲜蘑菇约600g, 约10h后出现阵发性脐周腹痛, 较剧, 伴腹泻, 为米汤水样稀便, 共5次, 量中等, 无发热 (同时服用蘑菇的共7位亲人均出现相似的症状), 伴乏力, 无头晕、咳嗽、胸闷、气急等, 当地医院考虑毒蕈

菇中毒, 予洗胃10000mL, 收住ICU病房, 予血液灌流、血必净清除炎症介质、保肝及对症治疗3d, 但肝功能逐渐恶化, 复查肝功能示, TBIL 155.7 μmol/L, DBIL 128.2 μmol/L, ALT 894 U/L, AST 746 U/L, 生化、凝血功能示, APTT 121.9 s, FIB 1.10 g/L, BPC 19 × 10⁹ L⁻¹, K⁺ 6.06 mmol/L, BG 3.6 mmol/L, 提示肝功能衰竭并凝血功能障碍, 遂转无锡市第二人民医院。入院查体: T 37.2 °C, P 104次/min, R 26次/min, BP 126/67 mmHg。神志萎靡,