

ОСТРЫЕ ОТРАВЛЕНИЯ ГРИБАМИ И ИХ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Борисевич С. Н.¹, Григорьев И. М.², Грищенко Л. Н.¹, Богдан А. Н.²

¹Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

²Учреждение здравоохранения «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи»,

г. Минск, Республика Беларусь

Реферат. Проведена оценка клинико-лабораторных данных 111 пациентов, госпитализированных с диагнозом «острое отравление ядовитыми грибами» в Республиканский токсикологический центр по лечению острых отравлений химической этиологии (далее — Центр) УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» г. Минска в 2016 г. Среди обследованных нами пациентов преобладали женщины в возрасте до 50 лет, поступившие в состоянии средней тяжести, чаще с токсической гастроэнтеропатией, гепато- и нефропатией.

Предложенная методика обнаружения аматоксина в плодовом теле гриба при воздействии на него 1%-м серноокислым раствором ванилина может быть использована для экспресс-диагностики отравлений бледной поганкой.

Ключевые слова: отравление грибами, клиническое течение, лабораторная диагностика.

Введение. В Европе ежегодно регистрируется около 10000 отравлений грибами, летальность составляет от 1 до 8 % [1]. В учреждениях здравоохранения Беларуси (по данным ведомственной отчетности) в 2010 г. оказана медицинская помощь 629 пациентам с диагнозом «острое отравление грибами», в 2012 г. — 418, в 2014 г. — 267 и в 2015 г. — 181, т. е. число обращений с такими отравлениями сократилось за указанный период более чем втрое. Летальность в среднем снизилась в 1,5 раза [2], что свидетельствует об эффективной санитарно-просветительной работе соответствующих структур Минздрава Республики Беларусь среди населения и специализированной лечебной помощи, в т. ч. развитии трансплантологии в нашей стране.

Различные токсины (наиболее опасны термостойкие) ядовитых грибов оказывают избирательное действие на отдельные органы и системы: бледная поганка (фаллоидин и аманилин) вызывает гепато- и нефротоксическое действие, мухоморы (мускарин и микоатропин) — нейротоксическое (холинолитическое), псилоцибиновые грибы (псилоцин, псилоцибин, баоцибин) — наркотическое (галлюцинаторное), строчки и сморчки (гельвеловая кислота) — гематотоксическое (гемолитическое), нейротоксическое (судорожное), нефро- и гепатотоксическое действие. Отравления грибами обычно бывают случайными (пострадавшие уверены, что употребляли съедобные грибы) и часто носят семейный характер. Симптомы отравления грибами развиваются в диапазоне от 30 мин до 24 ч.

Более 90 % случаев смертельных отравлений грибами в нашей стране обусловлены употреблением бледной поганки. Токсины бледной поганки являются циклическими октапептидами, содержащими индольное кольцо; они не разрушаются при термической обработке и сохраняются в течение нескольких лет. Летальная доза α -аманитина составляет 0,1 мг/кг.

Действие аматоксинов обусловлено угнетением эукариотической ядерной РНК-полимеразы-2, ответственной за образование мРНК. В результате блокируется синтез белка и происходит отсроченная гибель клетки. Основными мишенями являются клетки печени, проксимальных отделов почечных канальцев и желудочно-кишечного эпителия. Тяжесть отравлений бледной поганкой определяют особенности токсикокинетики. Большее количество всосавшегося яда экскретируется с желчью с последующим включением в энтерогепатическую циркуляцию, продолжающуюся до 48 ч. В результате повторного поступления аматоксинов в печень через систему портального кровообращения усиливается и удлиняется их гепатотоксический эффект. Отравления бледной поганкой делятся на периоды: латентный (бессимптомный), желудочно-кишечный в форме острого гастроэнтерита, период мнимого благополучия и в отдельных случаях присутствует период висцеральных поражений в виде токсического гепатита, быстро переходящего в острый некроз печени, и ДВС-синдрома. Эффект токсинов пропорционален интенсивности обменных процессов, поэтому дети отличаются крайне низкой выносливостью к таким отравлениям.

Лечение пациентов с острым отравлением грибами остается сложной проблемой токсикологии и является разделом международной программы ВОЗ «Химическая безопасность» [3]. По данным литературы, в стационарах летальность при отравлении бледной поганкой составляет до 20 % у взрослых и до 50 % у детей. Смерть наступает в результате токсического гепатита и острой сердечной недостаточности [4].

Латентный период свыше 6 ч (чаще 8–24 ч) составляет характерную особенность отравления бледной поганкой. Поражение печени диагностируется по увеличению ее размеров и биохимическим показателям крови: высокий уровень билирубина, высокая активность аминотрансфераз и щелочной фосфатазы. Прогноз особенно плохой, если протромбиновый индекс менее 15 %, имеются геморрагические проявления и гипогликемия.

Важнейшим элементом современной диагностики острых отравлений грибами является определение токсинов в биосредах пострадавшего и плодовых телах грибов.

Аматоксины выводятся из организма преимущественно через почки, их обнаружение в моче возможно через 17–28 ч после поступления в организм, что исключает данный способ из методов экспресс-диагностики.

Для химико-токсикологического исследования плодового тела гриба применяют метод ТСХ после экстракции 96 % спиртом и качественную реакцию с коричневым альдегидом в среде HCl: аматоксин дает фиолетовое окрашивание [5]. Эти методы применимы и для предварительного определения токсина в крови после многопроцедурной пробоподготовки.

Основным подтверждающим и наиболее информативным методом анализа крови является ВЭЖХ, также требующий сложной пробоподготовки (осаждение белков крови ацетонитрилом, центрифугирование, удаление из образца посторонних компонентов посредством метилхлорида, твердофазную экстракцию аматоксинов на патроне Bond Elute, ступенчатое их элюирование и концентрирование элюата) и наличия стандартного вещества.

Количественный анализ экстрактов, содержащих токсины бледной поганки, выполняется на жидкостном хроматографе, включающем двойной насос и спектрофотометрический детектор с диодной матрицей. Разделение компонентов экстракта проводится с помощью обращено-фазовой ион-парной хроматографии на колонке Nucleosil C-18 (250×4,6 мм). Спектрофотометрическое детектирование осуществляется при длине волны 303 нм в условиях контроля гомогенности хроматографических сигналов и сканирования в диапазоне от 190 до 350 нм. Пределы обнаружения α -аманитина при этом составляют 20 нг/мл в грибном экстракте и 2 нг/мл в плазме крови [6].

Отечественные химико-токсикологические и судебно-химические лаборатории по причине сложности такие исследования не проводят [7].

Цель работы — изучение особенностей клинического течения и возможности химических методов диагностики острых отравлений грибами.

Материалы и методы. Проведена оценка клинико-лабораторных данных пациентов, госпитализированных с диагнозом «острое отравление ядовитыми грибами» в Центр УЗ «ГК БСМП» г. Минска в 2016 г. Критериями включения пациентов в исследование служили: возраст старше 15 лет, а также анамнестически установленный факт связи острой химической травмы с употреблением грибов.

В химико-токсикологической части работы определялся экспрессный метод выявления аматоксинов в плодовом теле гриба бледная поганка.

Результаты и их обсуждение. Ежегодно в Центр обращаются до 200 пациентов с различными жалобами на самочувствие после употребления в пищу грибов (рисунок).

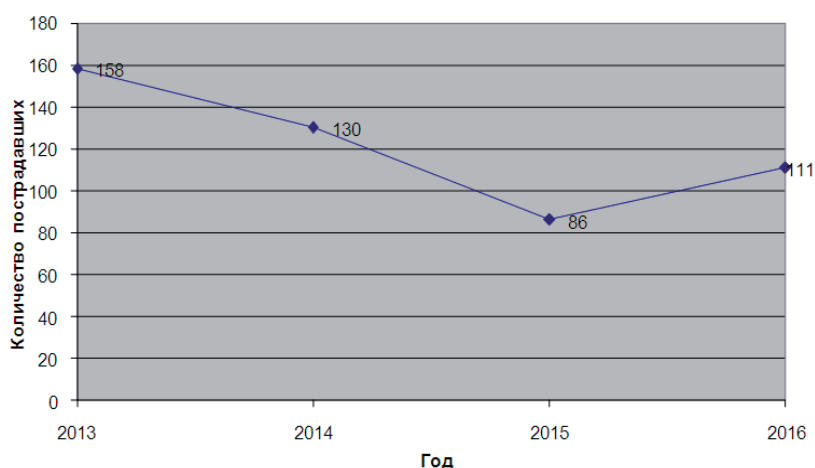


Рисунок — Число пациентов с острым отравлением грибами, пролеченных в Центре в 2013–2016 гг.

Нами обследовано 111 пациентов в возрасте от 15 до 88 лет, поступивших с предварительным диагнозом «острое отравление ядовитыми грибами» в 2016 г. Во всех эпизодах отравления грибными токсинами являлись случайными, что не дало возможности установить конкретный вид грибов, вызвавших отравление.

Распределение пациентов по гендерному и возрастному признакам приведено в таблице 1.

Таблица 1. — Распределение пациентов по половозрастному признаку, %

Пол/Возраст	До 19 лет	20–29 лет	30–39 лет	40–49 лет	50–59 лет	Старше 60 лет	Всего
Женщины	7,2	12,6	7,2	7,2	9,0	19,8	63
Мужчины	1,8	2,7	7,2	9,0	10,0	6,3	37

Среди пострадавших преобладали лица женского пола (63 %) в возрасте до 50 лет (55 %).

По результатам анализа тяжести состояния пациентов при поступлении в стационар установлено, что в удовлетворительном состоянии поступили 11,5 % пациентов, в состоянии средней тяжести — 88,5 %. Наиболее частым комплексом симптомов явилась токсическая гастроэнтеропатия (84,6 % пациентов), при этом у 68,4 % из них присутствовал болевой синдром, у 80,6 % — диспептический, у 35,7 % — диарейный.

Ввиду неспецифичности клинической картины грибной интоксикации решающее значение в ее диагностике имеют результаты лабораторного исследования.

Биологическим материалом для лабораторных исследований явились кровь и моча пациентов. Лабораторные признаки токсической гепатопатии найдены у 23,3 % пациентов: у 22,7 % отмечалось превышение общего билирубина в 1,2–2,5 раза, у 20,2 % — превышение уровня трансаминаз в 1,5–3 раза. У 42,7 % пациентов отмечались признаки токсической нефропатии, при этом в 9,5 % случаев наблюдалось повышение уровня мочевины в 1,2–1,6 раза, а в 22,5 % — повышение содержания креатинина в 1,05–1,2 раза.

Химико-токсикологические исследования проводились на наличие алкоголя в крови и моче (газохроматографическим методом) и обнаружение свободного гемоглобина (фотоэлектроколориметрическим методом) для исключения гемолиза при отравлении бледной поганкой. Исследования на наличие грибных токсинов в биожидкостях не производились.

Для лечения отравлений грибами использовались следующие методы: усиление естественных процессов детоксикации, неспецифическая антидотная терапия (ацетилцистеин, бензилпенициллина натриевая соль, силибинин), симптоматическая терапия, регуляция КОС, электролитного баланса, белкового состава крови; коррекция гемостаза и нарушений микроциркуляции; коррекция токсической гепатопатии, токсической нефропатии, психоневрологических расстройств (энцефалопатии). В период острого гастроэнтерита при наличии гиперферментемии в комплексную терапию незамедлительно включали эфферентные методы детоксикации.

В токсикогенной стадии в ранние сроки использовали методы искусственной детоксикации, такие как гемо- и плазмасорбция. В соматогенной фазе при развитии ОППН в лечении применяли гемодиализ, гемосорбцию и плазмоферез.

Все рассмотренные случаи интоксикаций токсинами грибного происхождения имели благоприятный исход, в 71 % случаев со сроком госпитализации до 2-х сут; 12 % случаев протекали с осложнениями и имели срок госпитализации от 6 до 12 сут. (таблица 2).

Таблица 2. — Сроки госпитализации пациентов с острым отравлением грибами

Срок госпитализации, сут	1	2	3	4	6	8	9	10	12	Итого
Доля пациентов, %	43	27,9	15,5		1,7	3,4	1,7	1,7	3,4	100 %

Предварительный диагноз подтвердился во всех случаях, в заключительном диагнозе были приведены формулировки согласно МКБ-10: Т62 «Токсическое действие ядовитых веществ, содержащихся в съеденных грибах» или Х49 «Случайное отравление и воздействие ядовитыми веществами ядовитых продуктов питания и растений».

Химико-токсикологическая лабораторная диагностика отравлений грибами разработана и используется отечественными лабораториями недостаточно из-за отсутствия современной аппаратуры и диагностикумов для верификации диагноза.

Согласно литературной методике [6] мы воспроизвели реакцию аматоксинов плодового тела бледной поганки с коричневым альдегидом, содержащимся в газетной бумаге, и выяснили, что синее окрашивание в этой реакции развивается только через 20–30 мин и полностью исчезает через 48 ч. Данную цветную реакцию можно успешно использовать для исследования плодового тела гриба в химико-токсикологических и судебно-химических лабораториях, но она не подходит для методов экспресс-диагностики из-за длительного периода развития окрашивания.

Нами были апробированы для исследования непосредственно плодового тела бледной поганки ряд реакций, описанных в литературе, для обнаружения аматоксинов в его спиртовом экстракте. Применена следующая методика: кусочек гриба помещают в выпарительную чашку и добавляют несколько капель 1 %го раствора одного из альдегидов (салицилового, п-диметиламинобензальдегида, ванилина) в концентрированной серной кислоте. Токсины бледной поганки дают следующие окрашивания: с салициловым альдегидом — темно-красное, развивающееся во времени, с п-диметиламинобензальдегидом — оранжево-коричневое, развивающееся во времени, с ванилином — мгновенно развивающееся яркое оранжево-коричневое окрашивание. Параллельно был поставлен контрольный опыт с концентрированной H₂SO₄, не давший подобных эффектов. Ввиду быстрого развития яркого окрашивания реакция с ванилином может быть предложена для экспресс-диагностики отравления бледной поганкой.

Поиск экспрессных и доступных методов химико-токсикологического определения токсинов бледной поганки в биожидкостях человека является актуальным.

Заключение. В настоящее время в Республике Беларусь сложилась тенденция снижения числа острых интоксикаций грибами, что свидетельствует об эффективной санитарно-просветительной работе.

Среди обследованных нами пациентов с острым отравлением грибами, пролеченных в Республиканском токсикологическом центре в 2016 г., преобладали женщины в возрасте до 50 лет, поступившие в состоянии средней тяжести, чаще с токсической гастроэнтеропатией, гепатопатией (превышение общего билирубина и уровня трансаминаз) и нефропатией (повышение уровня мочевины и содержания креатинина).

Предложенная нами методика обнаружения аматоксина в плодовом теле гриба при действии на него 1%-м сернокислым раствором ванилина с моментальным развитием оранжево-коричневого окрашивания может быть использована в качестве экспресс-пробы и с большой вероятностью применима и для определения грибных токсинов в биожидкостях пациентов.

Литература

1. Судебно-медицинская диагностика отравления ядовитыми грибами : учеб.-метод. пособие / А. Н. Петров [и др.]. — СПб. : Изд-во СПХФА, 2002. — 51 с.
2. Лабораторная диагностика отравлений грибами / С. Н. Борисевич [и др.] // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. Приложение. 2016. Материалы VIII Съезда врачей клиничко-лабораторной службы Министерства здравоохранения Республики Беларусь, Минск, 10–11 нояб. 2016 г. — Минск, 2016. — С. 57–58.
3. Соколов, Ю. А. Особенности клинической картины острых экзогенных интоксикаций токсинами грибного происхождения при благоприятном исходе / Ю. А. Соколов, О. В. Мальцевич, И. В. Гуца // Мед. журн. — 2014. — № 2. — С. 111–114.
4. Предко, Н. М. Отравления ядовитыми грибами, клиника, дифференциальная диагностика, принципы лечения: методические рекомендации / Н. М. Предко, И. М. Григорьев, В. В. Постникова. — Минск, 2008. — 29с.
5. Фартушный, А. Ф. Химико-токсикологические исследования при отравлениях грибами / А. Ф. Фартушный, А. П. Сухин, Е. А. Фартушная // Суд.-мед. экспертиза. — 2000. — Т. 43, № 2. — С. 111–114.

6. Современные проблемы химико-токсикологического анализа отравлений грибами / Е. М.Саломатин [и др.] // Современные проблемы химико-токсикологического анализа наркотических средств : материалы Всерос. науч.-практ. конф., Санкт-Петербург, 23–24 сен. 1999 г. — СПб., 1999. — С. 71–75.

7. Борисевич, С. Н. Лабораторная диагностика острых отравлений : учеб. пособие / С. Н. Борисевич. — Минск : Выш. шк., 2016. — 223 с.

ACUTE FUNGAL POISONING AND ITS MEDICAL TESTING

Borisevitch S. N.¹, Grigoryev I. M.², Grishenkova L. N.¹, Bogdan A. N.²

¹Educational Establishment “Belarusian State Medical University”, Minsk, Republic of Belarus

²Healthcare Institution “Minsk City Emergency Hospital”, Minsk, Republic of Belarus

111 patients hospitalized with the diagnosis of «acute poisoning with poisonous fungi» have been medically tested in the Republican Toxicology Center of Minsk City Emergency Hospital. An express method for detecting amatoxin in the body of the death cap (*Amanita phalloides*) has been developed. Among the patients we studied the majority were the women under 50 years, hospitalized with moderate intoxication, mostly with toxic gastro enteropathy, hepatopathy and nephropathy. The method elaborated for detecting amatoxin includes the treatment of *Amanita phalloides* body with a 1 % solution of vanillin in concentrated Sulfuric acid and can be used for express medical testing.

Keywords: fungal poisoning, clinics, medical testing.