



MUSHROOM (FUNGI) POISONINGS INVESTIGATED AT THE REGIONAL CENTRE OF ACUTE POISONING, INSTITUTE OF OCCUPATIONAL MEDICINE AND ENVIRONMENTAL HEALTH, SOSNOWIEC, POLAND

Małgorzata KAPALA, Anna NOWACKA, Mariusz KICKA, Marek RAKOWSKI

Institute of Occupational Medicine and Environmental Health, Sosnowiec, Poland

Abstract

Accidental mushroom poisoning is most frequently associated with a lack of knowledge about mushrooms, macroscopic similarities between poisonous and edible species, unsuitable cooking practices and/or improper storage. Incidences of poisoning by hallucinogenic mushrooms are usually treated as intentional. Between 2003 and 2007, at the Regional Centre of Acute Poisoning in Sosnowiec, 349 cases of mushroom poisoning were diagnosed. The reported cases were as follows: cytotropic (16 cases), neurotropic (53 cases, including 19 by the liberty cap – *Psilocybe semilanceata*), and various gastro-intestinal types (280 cases). The complete diagnostic management protocol employed in mushroom poisoning encompasses: 1. A precise evaluation of medical history; 2. A microscopic examination of spores in biological materials (such as vomit, stomach washings, faeces); 3. Macroscopic and microscopic analyses of comparative materials (remnants of mushroom dishes, mushroom peelings); 4. An examination of morphological and biochemical parameters – an assessment of internal organ damage (the liver, kidneys), homeostasis, water-electrolyte balance and acid-base equilibrium disturbances. Microscopic examination of spores is very difficult and usually requires highly qualified laboratory staff with long-term experience. Spores belonging to the same fungal genera can be strikingly similar (e.g. *Amanita muscaria*, *Amanita phalloides*, and *Amanita pantherina*). However, spores originating from the same hymenium are not identical. They may differ in their colour intensity, size and shape. Microscopically, spores present in biological material may resemble leukocytes, yeast cells, epithelium cells or fat droplets.

Key words

Mushroom poisoning; Diagnostics; Mycology.

Received 21 July 2008; accepted 26 August 2008

1. Introduction

In the majority of European countries, mushroom poisoning has been and continues to be a problem that concerns the whole of society. In view of the trend towards returning to nature, it is possible that the problem may grow [6]. In Poland, picking mushrooms that grow wild in forests, fields and meadows is a popular pastime. Mushroom-picking is not always accompanied by knowledge of Fungi (mushroom) species and

the ability to differentiate between edible and poisonous Fungi. Furthermore, knowledge on consequences of consuming poisonous mushrooms is inadequate.

Mushrooms are highly valued for their taste and smell. The calorific value of mushrooms is very low and they are difficult to digest. They are eaten in a variety of forms: raw, boiled, fried, roasted, marinated, etc. Instances of poisoning by mushrooms (eaten as food) are usually accidental. Hallucinogenic mushrooms, however, are eaten intentionally (they can be chewed

raw, either fresh or dried, or less frequently, infusions or solutions for injection are prepared from them) [18]. Mycetism (mushroom poisoning) is seasonal, being determined by the vegetation period of particular poisonous mushroom species. The highest number of mushroom poisoning cases occur between July and October, which has also been confirmed by statistical data collected by the Regional Centre of Acute Poisoning, Institute of Occupational Medicine and Environmental Health in Sosnowiec.

2. Types of mushrooms

In spring (between March and April), occur cases of poisoning by the false morel (*Gyromitra esculenta*) occur; in June – with the deadly fibre-cap (*Inocybe erubescens*), often mistaken for the edible St. George's mushroom (*Calocybe jambosa*), and with the livid entoloma (*Entoloma sinuatum*), which is mistaken for the first field mushrooms of the season (*Agaricus campester*). Starting from mid-July until October, mushroom hunters are at risk of mycetism caused by sporocarps of various fly agarics: the death cap (*Amanita phalloides*), the fool's mushroom (*Amanita verna*) and the destroying angel (*Amanita virosa*). However, the cause of the most numerous poisonings in this period is *Paxillus involutus*, commonly known as the common or brown roll-rim, or the poison pax. In September, woods abound in edible and poisonous mushrooms, and autumn poisonings are caused by a multi-species mixture of fungi. Mushrooms are characterised by a variety of shapes, have diversified sizes, and their changeable colour makes them attractive.

The shape, colour and morphotic elements of the hymenophore constitute an important taxonomic property that facilitates identification of mushroom species. Mushrooms with gill-bearing hymenophores are particularly dangerous, and mistaking poisonous for edible species is particularly common in the case of young sporocarps.

Various mushroom species cause poisoning that is characterised by a diversified latency period, symptoms and clinical course. With respect to the mechanism and consequences of the activity of toxins originating from mushrooms, poisonings may be divided into:

- cytotoxic (causing damage to the parenchymal organs – the liver and kidneys);
- neurotoxic (acting upon the nervous system and causing muscarinic, atropinic and hallucinogenic symptoms);
- gastric (causing gastro-intestinal symptoms).

3. Types of poisonings

Determining the type of poisoning in its initial stage is difficult, since in all cases, the affected individual may present with stomach ache, nausea, vomiting, diarrhoea or headaches, irrespectively of the poisonous factor. An important criterion in evaluating a patient with mushroom poisoning is the latency period, or the time lapse between eating the dish and the onset of initial symptoms. Symptoms developing within 30 minutes to 2–5 hours are characteristic of poisonings with a short latency period, with a milder course and a favourable prognosis. Poisonings with a long latency period, ranging from 6 to 12 hours (in some cases as many as 20–30 hours or even several days, e.g. in mycetism caused by the deadly webcap – *Cortinarius orellanus*), are cytotoxic in character and are among the most dangerous (Table I).

TABLE I. LATENCY CYCLES OF SYMPTOMS OF POISONING BY SELECTED FUNGI SPECIES

Type of poisoning	Latency cycles of symptoms
Cytotoxic poisoning	
<i>Amanita phalloides</i>	12–24 h
<i>Gyromitra esculenta</i>	6–12 h
<i>Cortinarius orellanus</i>	2–14 days
Neurotoxic poisoning	
<i>Inocybe erubescens</i>	0.5–1 h
<i>Paxillus involutus</i>	4.5 h
<i>Amanita muscaria</i>	1 h
<i>Amanita pantherina</i>	2–3 h
Gastrointestinal poisoning	0.5–3 h

Information on the recent medical history, i.e. the type of clinical symptoms and the interval between the onset of the disease and the time of eating the dish should be included on the referral form for mycological evaluation and thoroughly analysed prior to such tests. Therapeutic success is in many cases determined by the time lapse between the consumption of the toxin and the commencement of treatment [5]. When treating victims of mushroom poisoning, the most important measures are: removal of mushroom residues from the gastro-intestinal tract, interruption of enterohepatic circulation and inhibition of toxin binding to hepatic cells [14]. At the same time, water-electrolyte

balance and acid-base balance is restored, and – if need be – treatment of liver failure is initiated.

Patients with mycetism may present with a highly varied course, from mild to extremely severe, with symptoms of liver failure, multiorgan damage, hepatic coma, cardiovascular collapse and death [5, 12]. Extremely severe mushroom poisonings are caused by ingestion of fungi belonging to the *Amanita* genus, in particular the death cap (*Amanita phalloides*). Their toxicity is associated with two groups of toxins: amanitins and phalloidins, which differ in the mechanism of their activity. Amanitins damage the structure of cellular nuclei. Inhibiting RNA polymerase II, they interfere with mRNA transcription, thus triggering apoptosis. Gastrointestinal epithelial cells, liver, kidney, pancreas and testicle cells, as well as lymphocytes are particularly prone to such damage [3].

Phalloidins exert a damaging effect upon cellular membranes and are most likely responsible for the nausea, vomiting and diarrhoea the patient experiences. The course of poisoning may be highly varied [5, 12] and in some cases, the symptoms may be suggestive of an altogether different condition, e.g. cerebral stroke [9, 13, 17], myocardial infarction [2] or insanity [3, 10].

4. Hallucinogenic mushrooms

The panther cap, also known as the false blusher (*Amanita pantherina*) and the fly agaric (*Amanita muscaria*) are very common. The panther cap is most often mistaken for the parasol mushroom (*Macrolepiota procera*). Young sporocarps of both mushroom species bear a particular resemblance to each other. Atropinic and muscarinic symptoms of poisoning are the result of toxins present in both mushrooms, i.e. derivatives of 3-hydroxyisoxazol acid (ibotenic acid, muscimol, muscazone) and muscarine. The fly agaric also contains muscaridine, which exhibits parasympathomimetic activity. Compounds sharing the properties of atropine – muscimol, ibotenic acid, as well as bufoteine (a derivative of imidazole) – are characterised by their hallucinogenic activity [4, 11].

Due to its appearance, poisonings by the fly agaric occur most commonly in children and are accidental. Among adolescents, intentional poisonings by this mushroom are noted due to its hallucinogenic properties [11, 12, 16]. Intoxication that follows drinking a concoction or ingesting sliced fresh or dried sporocarps initially resembles alcohol intoxication [15]. Some individuals drink alcoholic extracts – also prepared with methyl alcohol – these are used in folk

medicine, being rubbed in to relieve rheumatic pain. Fly agaric is also ingested with the purpose of committing suicide [8].

In Poland, the most popular hallucinogenic mushrooms ingested to achieve a state of intoxication are the liberty cap (*Psilocybe semilanceata*) and *Panaeolus papilionaceus*. Eighty-one Fungi species belonging to the *Psilocybe* genus are known to have hallucinogenic properties [1, 16]. They are often referred to as “magic mushrooms” due to the nature of the intoxication accompanied by mystic visions. The liberty cap is picked in meadows and along forest tracks between August and December (with the peak crop starting in mid-October), mostly in upland areas. The Fungus contains the following pharmacologically active hallucinogenic compounds: psilocin (4-hydroxy-N-dimethyltryptamine), psilocybin, baeocystin and norbaeocystin.

The hallucinogenic substances content varies depending on the conditions prevailing in the habitat where the mushrooms are found. It is assumed that 10 g of fresh liberty cap contains on average 10 mg of psilocybin. On average, approximately 5–30 raw mushrooms are consumed. The symptoms of mycetism occur after 20–40 minutes. Taken orally, psilocybin is active for approximately 5–6 h. The psychoactive effects of psilocybin ingestion are highly individual and unpredictable. In Poland, psilocybin and, by the same token, raw materials and products that contain psilocybin have been included in the list of group I-P psychotropic substances (*Journal of Laws* no. 179, item 1485, of July 29, 2005).

Hallucinogenic mushrooms are also cultivated at home. Spores of Fungi that grow in our climate zone as well as species that grow outside our zone, e.g. *Psilocybe cubensis*, are unlawfully sold online. Together with the material (spores), the seller provides precise instructions on mushroom growing. Following drying and extraction of active substances from the home-grown mycelium, brown, crystalline powder is obtained, which contains a mixture of hallucinogenic compounds. Dried mycelium is also divided into portions and sold as “fixes” for consumption. Ascertaining the presence of liberty cap in a powdered extract is practically impossible by macroscopic examination and microscopy. Attempts have been made at developing a method of mushroom identification by PCR, a technique employed in molecular biology. The investigations encompassed genetic material originating from the liberty cap and other fungal species that are not closely related (yeasts, dermatophytes), as well as from species belonging to the same subtype (bay bolete, slippery Jack). Only the detection of a DNA sequence specific for the liberty cap yielded satisfactory

results; the introduction of the method to common practice might allow more effective diagnostic management in cases associated with consumption of the hallucinogenic mushroom [1, 7].

5. Objective

The objectives of the present report were as follows:

- to emphasise the problems associated with mushroom poisoning and mycological diagnostic management, the latter being of significance in early diagnosis and determination of the cause of poisoning;
- to demonstrate difficulties inherent in identification of fungal spores in microscopic preparations;
- to draw attention to poisonings by intentionally ingested hallucinogenic mushrooms.

6. Material and methods employed in mycological diagnostic management

Analysis of fungal spores detected in gastrointestinal contents allows determination of the mushroom species that may have caused the poisoning long before any changes occur in biochemical or haematological parameters. The type of investigated material and the time of its collection are important factors that determine the validity of such studies.

Due to their diagnostic value, the highest importance is ascribed to samples of gastrointestinal contents, rich in non-digested food, when collected in the initial hours of poisoning. These include vomit, gastric contents obtained by gastric probing or stomach washings. Stool samples should be collected at the same time as stomach washings. Spores remain in the stomach up to 2 days and in the stool up to 7 days.

When identifying mycetism, an important role is played by secured remnants of uneaten food and mushroom peelings. Such materials include entire fragments of sporocarps, which, when examined macroscopically and microscopically, reveal morphological properties allowing prompt identification of the genus. Microscopic examination of the above materials is aimed at determining the presence of spores and spore identification through comparison with standard fungal spores. In doubtful cases, the result requires verification by 2–3 competent laboratory workers.

Mycological microscopic diagnostic management includes:

1. procedures for degreasing, concentrating and dissolving the investigated material (diethyl ether, petroleum ether, glycerin, centrifugation);
2. chemical microreactions employing the following reagents: Meltzer's reagent – to stain spore membranes and eliminate starch; Sudan III – to stain fat droplets; ammonium hydroxide – to shrink spores; 10% HCl – to differentiate between spores and fat droplets;
3. standard fungal spores from a kit developed and described by the Department of Laboratory Diagnostics (DLD), Institute of Occupational Medicine and Environmental Health in Sosnowiec.

Mycological diagnostic management in DLD is carried out in keeping with the recommendations of the Mycology Department, Voivodeship Sanitary-Epidemiological Station in Poznań [8].

7. Results and discussion

In the years 2003–2007, among individuals suspected of suffering from poisoning by various types of mushrooms, the presence of fungal spores was confirmed in investigated biological materials in 349 cases. In view of the severe course of the disease, 42 patients were hospitalised at the Regional Centre of Acute Poisoning in Sosnowiec (Table II).

In the group of the most severe cytotropic poisonings, materials originating from seven patients contained spores of the death cap, while biological samples collected from nine individuals demonstrated the presence of spores of the false morel. Five patients from this group were hospitalised at the Regional Centre of Acute Poisoning in Sosnowiec. In individuals with diagnosed poisoning by the death cap, therapeutic management depended on the severity of poisoning [8, 14]. Due to symptoms of acute hepatic failure, three patients were referred to the Department of General Surgery, Transplantology and Liver Diseases, Medical University of Warsaw, to be assessed for liver transplantation. One patient died, having accidentally eaten a death cap after mistaking it for a parasol mushroom. The initial symptoms – vomiting and diarrhoea – occurred within 10 hours following the meal. Laboratory tests confirmed typical signs of *Amanita phalloides* poisoning syndrome. On day 3 and 4, the patient demonstrated clear symptoms of grade I° hepatic encephalopathy. On day 8, the patient developed anuria followed within three hours by pulmonary edema and blood pressure falling to values below the measuring threshold. On day 9, the patient manifested symptoms

TABLE II. TYPES OF DIAGNOSED POISONINGS AT THE REGIONAL CENTRE OF ACUTE POISONING IN SOSNOWIEC IN 2003–2007

Type of poisoning	Fungi species	Number of diagnosed poisonings	Number of hospitalisations
Cytotropic	<i>Amanita phalloides</i>	7	4
	<i>Gyromitra esculenta</i>	9	1
Neurotropic	<i>Amanita pantherina</i>	11	3
	<i>Amanita muscaria</i>	8	1
	<i>Inocybe erubescens</i>	3	2
	<i>Coprinus atramentarius</i>	1	1
	<i>Paxillus involutus</i>	11	–
Gastro-intestinal	<i>Boletaceae</i>	172	
	<i>Macrolepiota procera</i>	64	
	<i>Lepiota aspera</i>	1	
	<i>Tricholoma</i>	16	
	<i>Russula emetica</i>	4	
	<i>Hypholoma fasciculare</i>	2	
	<i>Entoloma sericeum</i>	1	
	<i>Armillaria</i>	16	
	<i>Tylopilus felleus</i>	1	
	<i>Cantharellus</i>	3	
Hallucinogenic	<i>Psilocybe semilanceata</i>	19	2

of increasing shock and acute renal failure and subsequently died (Table III).

Amanita phalloides poisoning is extremely severe and life-threatening. Such cases require prompt and precise diagnostic management and immediate, highly professional treatment. A sporocarp of average size weighing approximately 50 g represents a lethal dose for an adult human [14]. The death cap is often mistaken for the parasol mushroom, the man on horseback (*Tricholoma equestre*), the button mushroom (*Agaricus*) and *Russula*, although it is characterised by specific properties that allow the death cap to be differentiated from other fungi species. Such properties include a fixed ring (annulus), a hollow stipe and a swollen, sac-like volva (base) of the stipe.

Sporological diagnostics is difficult and calls for highly qualified staff and long-term experience due to difficulties in spore identification. Spores originating from the same hymenium may not look identical in a microscopic preparation, differing as to their colour intensity, size and shape. Spores of various mushrooms belonging to the same genus may be strikingly similar, as for example in the case of the death cap, the

fly agaric and the panther cap (Figure 1). Spore differentiation is additionally hindered by their similarity to morphotic elements encountered in the tested biological material (leukocytes, erythrocytes), yeast cells or epithelial cells (Figure 2). When identifying fungal spores, comparing them to standard spores is of great significance. The diagnostic value of mycological tests depends on a variety of factors, e.g. on the inter-

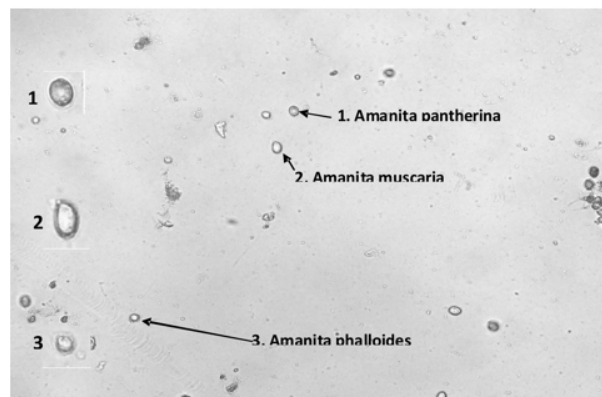


Fig. 1. Different types of *Amanita* spores in biological material (vomit).

TABLE III. CHANGES OF BIOCHEMICAL AND MORPHOLOGICAL PARAMETERS IN AMANITA PHALLOIDES POISONING

Parameters	Range of reference values	2 nd day	3 rd day	4 th day	
AlAt [U/l]	9–43	2122	3681	3645	Acute hepatic failure
AspAt [U/l]	9–43	6704	9012	7133	
Bilirubin [mg %]	< 1.2	4.7	5.65	5.31	
Ammonia [g/ml]	17–80	337		920	
Prothrombin time [%]	80–120	10	17	15	Hemorrhagic diathesis
Fibrinogen [g/l]	1.8–3.5	0.95			
APTT [s]	26–36	58		74	
Blood coagulation time [mg %]	5–40			20.1	
Blood clotting time [min]	4–10	9.30		14	Secondary anaemia
Thrombocytes [$10^3/\text{mm}^3$]	150–390	420	96	55	
Hemoglobin [g/dl]	11–16.5	14	7.7	10.5	
Erythrocytes [mmHg]	3.8–5.8	5.78	2.97	4.06	
Ph	7.36–7.42	7.388		7.165	
pCO ₂ [mmHg]	35–45	23.1		19.0	
HCO ₃ [mmol/l]	21–27	13.6		6.7	
BE [mmol/l]	0 ± 2.5	–9.1		–19.6	

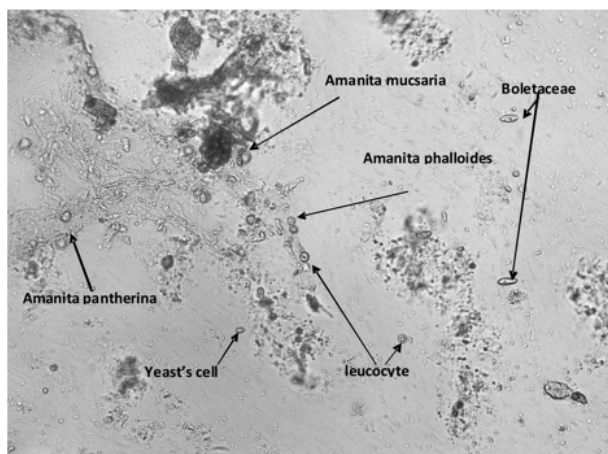


Fig. 2. Microscopic view of Fungi spores in biological material (stomach washing).

val between ingestion of the dish and collection of appropriate material, the amount and quality of the material, etc. Hence, sporological investigations may not be regarded as the sole indicator of mushroom poisoning; it is necessary to carry out biochemical and haematological analyses in parallel, allowing changes occurring in the course of the poisoning to be tracked.

Among 53 cases of neurotropic poisonings, spores of the panther cap were detected in 11 individuals, while spores of the fly agaric were seen in eight patients, the red-staining inocybe (*Inocybe erubescens*) – in three individuals, and the brown roll-rim (*Paxillus involutus*) – in 11 patients. Patients with severe fly agaric poisoning present with balance disturbances, psychomotor agitation, visual and auditory hallucinations, mood swings, mental disturbances, tonic-clonic spasms, deep coma, respiratory and circulatory disturbances. In less severe poisonings, with patients under treatment, the symptoms resolve promptly and recovery is achieved. A patient hospitalised at the Regional Centre of Acute Poisoning in Sosnowiec developed symptoms of mushroom poisoning relatively early (0.5–3 hours after a meal). Stomach ache and diarrhoea (muscarinic symptoms) occurred at the beginning of therapy. Subsequently, the predominant symptoms included agitation and pupillary dilation, as well as hallucinations. The initially mildly elevated level of aminotransferases (AlAt, AspAt) and bilirubin and prothrombin time quickly returned to within normal limits.

Neurotropic poisonings included 19 cases of poisoning by the liberty cap. Two young males treated at

the Regional Centre of Acute Poisoning in Sosnowiec ingested approximately 60 fresh *Psilocybe semilanceata* mushrooms in order to achieve a state of intoxication. Approximately two hours later, they started to “feel weird”, presenting with headache, visual disturbances and short-term loss of consciousness. Mycological examinations of stomach washings confirmed the presence of *Psilocybe semilanceata* spores. Biochemical tests did not demonstrate any damage to the parenchymal organs.

A case which drew the attention of the authors was poisoning by the common ink cap (*Coprinus atramentarius*). This edible mushroom grows in gardens, parks and fields. When ingested in conjunction with alcohol, symptoms of poisoning occur caused by coprine (an equivalent of disulfiram, which is present in the sporocarps. The toxin is eliminated at a very slow rate, over approximately 3–4 days. It inhibits biotransformation of ethanol to acetaldehyde. The typical antabus-effect was observed and the symptoms resolved after several hours. Microscopic examination of stool samples collected from the patient confirmed the presence of *Coprinus atramentarius* spores (Figure 3). Hepatic biochemical parameters showed a slight deviation from normal values, but this phenomenon was regarded as the consequence of alcohol abuse.

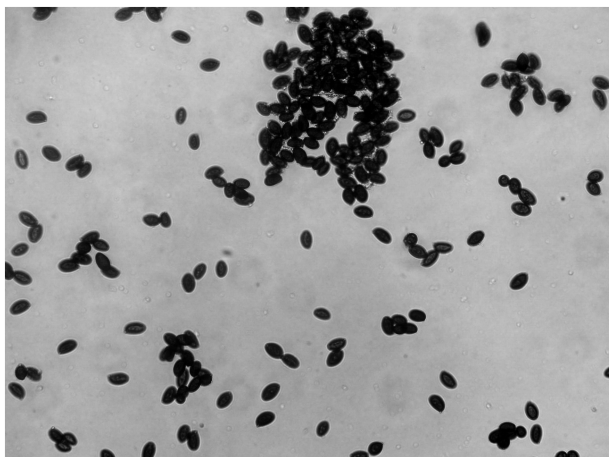


Fig. 3. Spores of *Coprinus atramentarius* in biological material (faeces).

In patients hospitalised due to gastrointestinal symptoms, who constituted the largest group of poisonings in the presented material, mycological tests most frequently demonstrated spores of *Boletaceae* mushrooms and the parasol mushroom. No biochemical evidence of damage to the hepatic and renal parenchyma was observed. Changes of some diagnostic parameters were noted in patients with other concomi-

tant conditions, such as kidney diseases, diabetes or alcohol-induced liver disease.

8. Summary

Clinical symptoms observed in a patient with mushroom poisoning, when supported by a thorough medical history, prompt mycological diagnosis and evaluation of biomarkers for poisoning, allow a decision to be taken on rational and effective therapeutic management. Microscopic sporological examinations of gastrointestinal contents, although difficult and requiring much experience, enable determination of the fungi species that may have caused poisoning long before changes in other diagnostic parameters occur.

References

- Adamczyk A., Sadakierska-Chudy A., Janoszka J. [i in.], Halucynogenne grzyby – łysiczki (*Psilocybe*). Część II. Identyfikacja *Psilocybe semilanceata* przy pomocy techniki PCR, *Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii* 2007, 57, 285–288.
- Boyer J. C., Hernandez F., Estorc J. [et al.], Management of maternal *Amanita phalloides* poisoning during the first trimester of pregnancy: a case report and review of the literature, *Clinical Chemistry* 2001, 47, 971–974.
- Chilton W. S., Ott J., Toxic metabolites of *Amanita pantherina*, *A. cothumata*, *A. muscaria* and other *Amanita* specie, *Lloydia* 1976, 39, 150.
- Erguven M., Yilmaz O., Deveci M. [et al.], Mushroom poisoning, *Indian Journal of Pediatrics* 2007, 74, 847–852.
- Faulstich H., Mushroom poisoning, *Lancet* 1980, 11, 794–795.
- <http://pl.wikipedia.org/wiki/Psilocybina>
- Jensen N., Gartz J., Laatsch H., Aeruginascin, a trimethylammonium analogue of psilocybin from the hallucinogenic mushroom *Inocybe aeruginascens*, *Planta Medica* 2006, 72, 665–666.
- Klawitter M., Grzyby wywołujące zatrucia neurotropowe [w:] Zatrucia roślinami wyższymi i grzybami, Henneberg M., Skrzydlewska E. [red.], PZWL, Warszawa 1984.
- McDonald A., Mushroom and madness. Hallucinogenic mushrooms and some psychopharmacological implication, *Canadian Journal of Psychiatry* 1980, 25, 586–594.
- Michelot D., Melendez-Howell L. M., *Amanita muscaria*: chemistry, biology, toxicology, and ethnomycology, *Mycological Research* 2003, 107, 131–146.
- Monoguerra A., Encyclopedia of toxicology chemical and concepts, Academic Press, San Diego 1988.
- Pauli J. L., Foot C. L., Fatal muscarinic syndrome after eating wild mushrooms, *Medical Journal of Australia* 2005, 182, 294–295.

13. Pawłowska J., Pawlak J., Kamińska A. [i in.], Zatrucie muchomorem sromotnikowym jako wskazanie do transplantacji wątroby u trzech członków rodziny, *Wiadomości Lekarskie* 2006, LIX, 1–2.
14. Policha B., Grzyby halucynogenne w zbliżeniu, *Serwis Informacyjny – Narkomania*, 2007, 36.
15. Satora L., Goszcz H., Ciszowski K., Poisoning resulting from the ingestion of mushrooms in Kraków, *Przegląd Lekarski* 2005, 62, 394–396.
16. Satora L., Pach D., Ciszowski K. [i in.], Panter cap *Amanita pantherina* poisoning case report and review, *Toxicon* 2006, 47, 605–607.
17. Snowarski M., Atlas grzybów Polski, Pascal, Warszawa 2005.
18. Tupalska-Wilczyńska K., Ignatowicz R., Poziemski A. [i in.], *Amanita pantherina* and *Amanita muscaria* poisonings – pathogenesis, symptoms and treatment, *Polski Mercuriusz Lekarski* 1997, 13, 30–32.

Corresponding author

Małgorzata Kapala
Regionalny Ośrodek Ostrego Zatrucia
ul. Kościelna 13
PL 41-203 Sosnowiec
e-mail: lab.@imp.sosnowiec.pl

ZATRUCIA GRZYBAMI W ŚWIEŁLE BADAŃ REGIONALNEGO OŚRODKA OSTRYCH ZATRUĆ INSTYTUTU MEDYCYNY PRACY I ZDROWIA ŚRODOWISKOWEGO W SOSNOWCU

1. Wstęp

Zatrucia grzybami w większości państw europejskich były i są problemem ogólnospołecznym. W związku z tendencjami powrotu do natury istnieje możliwość narastania problemu [6]. W Polsce popularne i cieszące się dużym powodzeniem jest zbieranie grzybów rosnących dziko w lasach, na polach i łąkach. Zbieranie nie zawsze łączy się ze znajomością gatunków i umiejętnościami odróżniania grzybów jadalnych od trujących. Niedostateczna jest też wiedza o następstwach wynikających ze spożycia grzybów trujących.

Grzyby są cenione za ich walory smakowe i zapachowe. Wartość kaloryczna grzybów jest bardzo niska, są ciężko strawne. Spożywa się je w bardzo różnej postaci: surowe, gotowane, smażone, pieczone, suszone, marynowane itp. Zatrucia grzybami są najczęściej przypadkowe. Celowo spożywane są grzyby o właściwościach halucynogennych (surowe – świeże lub suche są żute, rzadziej przygotowuje się z nich wywar lub roztwory do iniekcji) [18]. Charakter zatruć grzybami jest sezonowy, uwarunkowany okresem wegetacji poszczególnych gatunków grzybów trujących. Najwięcej zatruc przypada na okres od lipca do października, co znalazło potwierdzenie również w statystykach Regionalnego Ośrodka Ostkich Zatruc Instytutu Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu (ROOZ IMPiZS).

2. Rodzaje grzybów

W okresie wiosennym (marzec-kwiecień) występują zatrucia piestrzenicą kasztanowatą (*Gyromitra esculenta*); w czerwcu – strzępiakiem ceglastym (*Inocybe erubescens*) mylonym z jadalną gaską majówką (*Calocybe jambosa*) oraz wieruszką zatokowatą (*Entoloma sinuatum*) myloną z pierwszymi pieczarkami (*Agaricus campester*). Od połowy lipca do października niebezpieczne są owocujące muchomory: sromotnikowy (*Amanita phalloides*), wiosenny (*Amanita verna*) oraz jadowity (*Amanita virosa*). Przyczyną największej liczby zatruc w tym okresie jest krowiak podwinięty, popularnie zwany olszówką (*Paxillus involutus*). We wrześniu las obfituje w grzyby jadalne i trujące, a jesienne zatrucia spowodowane są wielogatunkową mieszkanką grzybów. Grzyby wyróżniają się dużym bogactwem kształtów, są różnej wielkości, a ich zmienna barwa stanowi o ich atrakcyjności.

Hymenofor – jego kształt, barwa, elementy morfotyczne, są ważną cechą systematyczną ułatwiającą identyfikację gatunków grzybów. Niebezpieczne są zwłaszcza grzyby z hymenoforem blaszkowatym, a mylenie grzybów jadalnych z trującymi odnosi się szczególnie do młodych owocników.

Różne gatunki grzybów wywołują zatrucia różniące się okresem inkubacji, objawami chorobowymi i przebiegiem klinicznym. Ze względu na mechanizm i następstwa działania toksyn zawartych w grzybach, wyróżniamy zatrucia:

- cytotropowe (uszkodzenie narządów mięsnych – wątroby, nerek);
- neurotropowe (działające na układ nerwowy z objawami muskarynowymi, atropinowymi, halucynogennymi);
- gastryczne (z objawami żołądkowo-jelitowymi).

3. Rodzaje zatruc

Rozpoznanie typu zatrucia w początkowym okresie zachorowania jest trudne, ponieważ we wszystkich przypadkach mogą wystąpić bóle brzucha, nudności, wymioty, biegunka czy bóle głowy, niezależnie od czynnika zatrucia. Ważnym kryterium oceny zatrucia jest okres utajenia, czyli czas, jaki upłynął od chwili spożycia potrawy do wystąpienia pierwszych objawów. Wystąpienie objawów w przedziale czasowym od 30 min do 2–5 h charakteryzuje zatrucia o krótkim okresie utajenia, które mają przebieg łżejszy i dobrze rokują. Zatrucia o długim okresie inkubacji trwającym 6–12 h (w niektórych przypadkach nawet 20–30 h lub kilka dni, np. zasłonakiem rudym, *Cortinarius orellanus*), mają charakter cytotropowy i należą do najbardziej niebezpiecznych (tabela I).

Zebrane w wywiadzie lekarskim dane dotyczące charakteru objawów klinicznych i czasu wystąpienia tych objawów od chwili spożycia potrawy powinny być zawarte w zleceniu na wykonanie badań mikologicznych i dokładnie analizowane przed wykonaniem tych badań. Powodzenie leczenia determinowane jest w wielu przypadkach czasem, jaki upłynął od momentu przyjęcia toksyny do podjęcia leczenia [5]. W leczeniu zatruc grzybami najważniejsze jest usunięcie resztek grzybów z przewodu pokarmowego, przerwanie krążenia jelitowo-wątrobowego oraz blokowanie wiązania toksyn z komórką wątrobową [14]. Jednocześnie wyrównywana jest gospodarka wodno-elektrolitowa, równowaga kwasowo-

zasadowa, a w razie konieczności włącza się leczenie niewydolności wątroby.

Przebieg zatrucia może być bardzo różny – od łagodnego do bardzo ciężkiego z objawami niewydolności wątroby, uszkodzeniami wielonarządowymi, śpiączką wątrobową, zapaścią sercowo-naczyniową, śmiercią [5, 12]. Do bardzo ciężkich należą zatrucia grzybami z rodzaju *Amanita*, szczególnie muchomorem sromotnikowym (*Amanita phalloides*). Za ich toksyczność odpowiedzialne są dwie grupy toksyn: amanityny i falloidydy, różniące się mechanizmem działania. Amanityny uszkadzają strukturę jąder komórkowych. Poprzez hamowanie polimerazy II RNA zaburzają one transkrypcję mRNA, powodując śmierć komórki. Szczególnie wrażliwe na uszkodzenia są komórki nabłonka pokarmowego, wątroby, nerek, trzustki, jąder oraz limfocyty [3].

Falloidydy działają uszkadzająco na błony komórkowe i prawdopodobnie odpowiedzialne są za obserwowane nudności, wymioty i biegunkę. Przebieg zatrucia może być bardzo różny [5, 12] i w niektórych przypadkach objawy mogą sugerować inną jednostkę chorobową, np. udar mózgu [9, 13, 17], zawał serca [2], niepoczytalność [3, 10].

4. Grzyby halucynogenne

Bardzo pospolitymi grzybami są: muchomor plamisty (*Amanita pantherina*) i muchomor czerwony (*Amanita muscaria*). Muchomor plamisty jest najczęściej mylony z czubajką kanią (*Macrolepiota procera*). Szczególnie podobne są młode owocniki obu gatunków. Za atropinowe i muskarynowe objawy zatrucia odpowiedzialne są toksyny występujące w obu grzybach, czyli pochodne kwasu 3-hydroksyzoksazolu (kwas ibotenowy, muscymol, muskazon) oraz muskaryna. Muchomor czerwony zawiera ponadto muskarydynę o działaniu para-sympatykomimetycznym. Związki o właściwościach atropiny – muscymol, kwas ibotenowy a także bufoteina (pochodna imidazolu) charakteryzują się działaniem halucynogennym [4, 11].

Zatrucia muchomorem czerwonym, z uwagi na jego wygląd, występują najczęściej u dzieci jako zatrucia przypadkowe. Wśród młodzieży obserwowane są rozmyślne zatrucia tym grzybem ze względu na jego właściwości halucynogenne [11, 12, 16]. Odurzenie, jakie występuje po wypiciu wywaru lub spożyciu pokrojonych świeżych lub suszonych owocników, przypomina w początkowej fazie stan upojenia alkoholowego [15]. Wypijane są nalewki spirytusowe (też metanolowe) stosowane w medycynie ludowej do nacierania przy bólach reumatycznych. Obserwuje się również zatrucia tym grzybem w celach samobójczych [8].

W Polsce popularnymi grzybami halucynogennymi spożywanymi w celu odurzenia są przede wszystkim: łyśniczka lancetowata (*Psilocybe semilanceata*) i kołpa-

czek motylkowaty (*Panaeolus papilionaceus*). Znanych jest 81 gatunków grzybów z rodzaju *Psilocybe* o właściwościach halucynogennych [1, 16]. Często nazywane są one „świętymi grzybami” ze względu na charakter odurzenia z występującymi mistycznymi wizjami. łyśniczka lancetowata zbierana jest na łąkach i przy leśnych drogach od sierpnia do grudnia (szczyt wysypu od połowy października), głównie na Pogórzu. Farmakologicznie czynnymi związkami halucynogennymi są: psylocyna (4-hydroksy-N,N-dimetolotryptamina), psylocybina, baeocystina i norbaeocystina.

Zawartość substancji halucynogennych jest różna w zależności od warunków siedliska, na których grzyby występują. Przyjmuje się, że średnio w 10 g świeżej łyśniczki znajduje się 10 mg psylocybiny. Przeciętnie zjadanych jest na surowo ok. 5–30 sztuk grzybów. Objawy zatrucia pojawiają się po 20–40 minutach. Psylocybina przyjęta doustnie działa ok. 5–6 h. Efekty psychoaktywne zażycia psylocybiny są bardzo indywidualne i nieprzewidywalne. W Polsce psylocybina, a więc surowce i produkty ją zawierające, znajduje się w wykazie środków psychotropowych grupy I-P (Dz. U. nr 179, poz. 1485 z dnia 29 lipca 2005 roku).

Grzyby halucynogenne hodowane są także w warunkach domowych. Sprzedaż zarodników grzybów występujących w naszej strefie klimatycznej oraz gatunków spoza naszej strefy, np. *Psilocybe cubensis*, oferują nielegalnie sklepy internetowe. Razem z materiałem oferowane są dokładne wskazówki dotyczące hodowli. Z wyhodowanej grzybni, po wysuszeniu i ekstrakcji związków czynnych, otrzymuje się brązowy, krystaliczny proszek zawierający mieszaninę związków halucynogennych. Suszona grzybnia jest również porcjowana i sprzedawana jako „działki” do spożycia. Rozpoznanie łyśniczki lancetowatej w sproszkowanym ekstrakcie jest praktycznie niemożliwe przy zastosowaniu metod makro- i mikroskopowych. Podejmowano próby opracowania metody identyfikacji tego grzyba oparte na technice PCR wykorzystywanej w biologii molekularnej. Badania obejmowały materiał genetyczny z łyśniczki lancetowatej oraz innych gatunków grzybów o małym stopniu pokrewieństwa (drożdże, dermatofity), a także gatunki należące do tego samego podtypu (podgrzybki, maślaki). Wykrycie specyficznej dla łyśniczki sekwencji DNA dało satysfakcjonujące rezultaty i wprowadzenie tej metody do powszechnego użycia mogłoby pozwolić na skuteczniejsze działania diagnostyczne związane ze spożyciem tego halucynogennego grzyba [1, 7].

5. Cel pracy

Celem pracy było:

- przypomnienie problematyki zatruc grzybami oraz diagnostyki mikologicznej, która jest istotna we

wczesnym rozpoznaniu i określeniu przyczyny zatrucia;

- ukazanie trudności identyfikacji zarodników grzybów w preparatach mikroskopowych;
- zwrócenie uwagi na zatrucia grzybami halucynogennymi spożywanymi rozmyślnie.

6. Materiał i metody stosowane w diagnostyce mikologicznej

Analiza sporologiczna treści przewodu pokarmowego daje możliwość określenia gatunku grzyba, który mógł być przyczyną zatrucia na długo przed wystąpieniem zmian jakichkolwiek parametrów biochemicznych czy hematologicznych. Rodzaj badanego materiału i czas jego pobrania są ważnymi czynnikami warunkującymi celowość tych badań.

Ze względu na wartość diagnostyczną największe znaczenie mają próbki treści przewodu pokarmowego bogate w niestrawione resztki pokarmowe pobrane w pierwszych godzinach zatrucia. Są to wymiociny, następnie zgłębnikowana treść żołądkowa lub popłuczyny żołądkowe. Równolegle z popłuczynami powinno się pobierać kał. Zarodniki przebywają w żołądku do 2 dni, w kale do 7 dni.

W identyfikacji zatruc grzybami dużą rolę spełniają zabezpieczone resztki niespożytej potrawy i obierki grzybów. W próbkach tych znajdują się całe fragmenty owocników, które na podstawie makro- i mikroskopowych cech morfologicznych pozwalają na szybkie określenie przynależności gatunkowej grzybów. Badanie mikroskopowe wyżej wymienionych materiałów ma na celu stwierdzenie obecności zarodników grzybów i ich identyfikację przez porównanie z zarodnikami grzybów wzorcowych. W przypadkach wątpliwych wymagana jest weryfikacja wyniku przez 2–3 kompetentne osoby.

Do mikologicznej diagnostyki mikroskopowej stosuje się:

1. metody odłuszczenia, zagęszczania i rozcieńczania badanego materiału (eter etylowy, eter naftowy, gliceryna, wirowanie);
2. mikroreakcje chemiczne z wykorzystaniem odczynników: Meltzer – do barwienia błon zarodników oraz eliminacji ziaren skrobi; Sudan III – do wybarwienia kropeł tłuszczu; wodorotlenek amonu – do obkurczania zarodników; 10% HCl – do odróżniania zarodników od kropeł tłuszczu;
3. wzorcowe zarodniki grzybów z kolekcji przygotowanej i opisanej w ZDL IMPiZŚ w Sosnowcu.

Diagnostyka mikologiczna w ZDL IMPiZŚ prowadzona jest zgodnie z zaleceniami Oddziału Grzyboznawczego Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Poznaniu [8].

7. Wyniki i ich omówienie

Wśród odnotowanych w latach 2003–2007 zachorowań z podejrzeniem zatrucia grzybami różnego typu, obecność zarodników grzybów w badanych materiałach biologicznych potwierdzono w 349 przypadkach. Z uwagi na ciężki przebieg zatrucia 42 pacjentów leczonych było na oddziale ROOZ IMPiZŚ (tabela II).

W grupie najcięższych zatruc o charakterze cytotropowym w materiałach od 7 pacjentów stwierdzono obecność zarodników muchomora sromotnikowego, a w materiałach od 9 pacjentów – zarodniki piestrzenicy kasztanowatej. Pięć osób z tej grupy było leczonych w ROOZ IMPiZŚ. U osób z rozpoznaniem zatrucia muchomorem sromotnikowym przebieg leczenia uzależniony był od ciężkości zatrucia [8, 14]. Trzy osoby ze względu na objawy ostrej niewydolności wątroby skierowane zostały do Kliniki Chirurgii Ogólnej, Transplantacyjnej i Wątroby Akademii Medycznej w Warszawie w celu zakwalifikowania do przeszczepu wątroby. W jednym przypadku, po zatruciu muchomorem sromotnikowym spożytym jako czubajka kania, nastąpił zgon. Pierwsze objawy w postaci wymiotów i biegunki wystąpiły po 10 godzinach od spożycia grzybów. Badania laboratoryjne potwierdziły typowe cechy zespołu zatrucia muchomorem sromotnikowym. W trzeciej i czwartej dobie obserwowano wyraźne objawy encefalopatii wątrobowej I°. W ósmej dobie wystąpił bezmocz, a następnie w ciągu trzech godzin obrzęk płuc i spadek ciśnienia do granic nieoznaczalnych. W dziewiątej dobie stwierdzono zgon wśród objawów narastającego wstrząsu i ostrej niewydolności nerek (tabela III).

Zatrucia muchomorem sromotnikowym należą do bardzo ciężkich i zagrażających życiu. Wymagają bardzo sprawnej, szybkiej diagnostyki oraz natychmiastowego, profesjonalnego leczenia. Owocnik średniej wielkości o masie ok. 50 g stanowi dawkę śmiertelną dla dorosłego człowieka [14]. Muchomor sromotnikowy mylony jest często z kanią, gąską, pieczarką i gołąbkami, mimo że posiada szereg swoistych cech, które pozwalają na odróżnienie go od innych gatunków. Są to: trwale przytwierdzony pierścień, pusty trzon i bulwiasto rozszerzona podstawa trzonu tworząca pochwę.

Diagnostyka sporologiczna jest trudna i wymaga wykwalifikowanego personelu oraz wieloletniego doświadczenia ze względu na trudności w identyfikacji zarodników. Zarodniki pochodzące z tego samego hymenium mogą w preparacie mikroskopowym nie wyglądać identycznie, różnić się intensywnością barwy, wielkością i kształtem. Duże podobieństwo może zachodzić między zarodnikami różnych grzybów należących do tego samego rodzaju, jak np. muchomor sromotnikowy, czerwononogi i plamisty (rycina 1). Dodatkowym utrudnieniem w różnicowaniu zarodników jest ich podobieństwo do występujących w badanym materiale biologicznym ele-

mentów morfotycznych (leukocyty, erytrocyty), komórek drożdży czy nabłonków (rycina 2). Istotne znaczenie dla identyfikacji obserwowanych zarodników ma ich porównanie z określonymi zarodnikami grzybów wzorcowych. Wartość diagnostyczna laboratoryjnych badań mikologicznych zależy od wielu czynników, np. od czasu, jaki upłynął od spożycia potrawy do pobrania odpowiedniego materiału do badań, jego ilości, jakości itp. Badania sporologiczne nie mogą więc być jedynym wskaźnikiem zatrucia grzybami i konieczna jest równoczesna diagnostyka biochemiczna i hematologiczna pozwalająca śledzić zmiany występujące w przebiegu zatrucia.

W grupie 53 przypadków zatruc typy neurotropowego u 11 osób wykryto zarodniki muchomora plamistego, u 8 osób – muchomora czerwonego, u 3 osób – strzępiaka ceglatego, a u 11 osób – krowiaka podwiniętego. Przy zatruciu muchomore czerwonym w ciężkich stanach występuje m.in. zaburzenie równowagi, pobudzenie psychoruchowe, omamy wzrokowe, słuchowe, zmienność nastrojów, zaburzenia psychiczne, skurcze kloniczno-toniczne, głęboka śpiączka, zaburzenia oddychania i krążenia. W stanach lżejszych, leczonych, objawy ustępują szybko i następuje powrót do zdrowia. U pacjenta hospitalizowanego w ROOZ IMPiZŚ objawy zatrucia wystąpiły stosunkowo wcześniej (0,5–3 h po spożyciu). Bóle brzucha, biegunka (objawy muskarynowe) wystąpiły na początku leczenia. Potem dominowały objawy w postaci pobudzenia i rozszerzenia źrenic oraz halucynacje. Lekko podwyższone początkowo wyniki badania poziomu aminotransferaz (Alat, Aspat), bilirubiny i czasu protrombinowego szybko osiągnęły granice normy.

W grupie zatruc typy neutropowego znalazło się 19 przypadków zatrucia łąszką lancetowatą. Dwóch młodych mężczyzn, leczonych w ROOZ IMPiZŚ, spożyło ok. 60 świeżych owocników łąszki w celu odurzenia się. Po ok. 2 godzinach nastąpiło „dziwne samopoczucie”, bóle głowy, zaburzenia widzenia, krótkotrwała utrata przytomności. Badania mikologiczne popłuczyn żołądka potwierdziły obecność zarodników łąszki lancetowatej. Badania biochemiczne nie wykazały cech uszkodzenia narządów mięsowych.

Uwagę autorów zwrócił przypadek zatrucia czernidlakiem pospolitym (*Coprinus atramentarius*). Jest to grzyb jadalny, rosnący w ogrodach, parkach, na polach. Przy jednoczesnym spożyciu alkoholu występują objawy zatrucia, za które odpowiedzialna jest kopryna (odpowiednik disulfiranu) obecna w owocnikach tego grzyba. Toksyna eliminowana jest z organizmu bardzo wolno, przez ok. 3–4 dni. Hamuje ona biotransformację etanolu na poziomie aldehydu octowego. Obserwowano typową reakcję antabusową, a objawy ustąpiły po kilku godzinach. W obrazie mikroskopowym kału pobranego od pacjenta stwierdzono obecność zarodników czernidlaka (rycina 3). Parametry biochemiczne wątroby nieznacznie

odbiegały od normy, ale uznano, że były one wywołane nadużywaniem alkoholu przez pacjenta.

U pacjentów hospitalizowanych z objawami żołądkowo-jelitowymi (największa grupa zatruc) w badaniach mikologicznych wykrywano najczęściej zarodniki grzybów borowikowatych i czubajki kani. Nie stwierdzono biochemicznych cech uszkodzenia mięszo wątroby i nerek. Zmiany niektórych parametrów diagnostycznych obserwowano u pacjentów z innymi współtowarzyszącymi schorzeniami, jak choroby nerek, cukrzyca czy alkoholowe uszkodzenie wątroby.

8. Podsumowanie

Objawy kliniczne obserwowane u zatrutego pacjenta, poparte dokładnym wywiadem lekarskim, szybkim rozpoznaniem mikologicznym oraz oceną biomarkerów zatrucia, pozwalają na podjęcie decyzji dotyczącej racjonalnego i skutecznego leczenia. Mikroskopowe badanie sporologiczne treści przewodu pokarmowego, jakkolwiek jest trudne i wymaga dużego doświadczenia, daje możliwość określenia gatunku grzyba, który mógł być przyczyną zatrucia na długo przed wystąpieniem zmian innych parametrów diagnostycznych.