

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ QUỐC PHÒNG
HỌC VIỆN QUÂN Y

NGUYỄN TIẾN DŨNG

**NGHIÊN CỨU THỰC TRẠNG NGỘ ĐỘC NẤM,
ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC, ĐỘC TÍNH CỦA MỘT SỐ
LOÀI NẤM ĐỘC THƯỜNG GẶP TẠI TỈNH CAO BẰNG**

Chuyên ngành : Dược lý - Độc chất

Mã số : 62 72 01 20

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SỸ Y HỌC

HÀ NỘI – 2015

Công trình được hoàn thành tại:

HỌC VIỆN QUÂN Y

Người hướng dẫn khoa học:

- **PGS.TS. HOÀNG CÔNG MINH**
- **PGS.TS. PHẠM DUỆ**

Phản biện 1: GS.TS. Nguyễn Thị Dụ

Phản biện 2: GS.TS. Trịnh Tam Kiệt

Phản biện 3: PGS.TS. Nguyễn Trọng Thông

Luận án sẽ được bảo vệ tại Hội đồng chấm luận án cấp trường, họp tại Học viện Quân y.

Vào hồi: giờ ngày tháng năm 2016.

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- 1. Thư viện Quốc gia**
- 2. Thư viện Y học Trung ương**

Thư viện Học viện Quân y

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của đề tài

Nấm độc bao gồm nhiều loài, mỗi loài có đặc điểm về hình thái, độc tố, tác dụng lên cơ thể khác nhau. Ngộ độc nấm thường do người ta không phân biệt được giữa nấm độc và nấm không độc.

Theo thống kê của Hiệp hội các trung tâm chống độc của Mỹ trong 10 năm (2001-2011) đã ghi nhận 83.140 trường hợp ngộ độc nấm độc (năm 2013 là 6204 ca). Tại Việt Nam, ngộ độc nấm liên tục xảy ra ở các tỉnh có nhiều rừng như Hà Giang, Cao Bằng, Bắc Kạn,... Tháng 3 năm 2014, Trung tâm chống độc Bệnh viện Bạch Mai đã điều trị cho 15 người bị ngộ độc nấm từ Thái Nguyên, Tuyên Quang, Cao Bằng, tử vong 10 người (66,7%). Các công trình nghiên cứu về nấm độc ở Việt Nam rất ít, cho đến trước năm 2008, tranh tuyên truyền phòng chống ngộ độc nấm của Bộ y tế cũng như của các tỉnh chủ yếu dựa vào hình ảnh các loài nấm độc mọc ở Mỹ, châu Âu, trong đó có nhiều loài nấm chỉ mọc ở vùng ôn đới nên hiệu quả tuyên truyền chưa cao.

Cao Bằng là một tỉnh miền núi phía bắc, có hệ sinh thái rừng rất đa dạng và phong phú. Theo thống kê của Trung tâm Y tế dự phòng, Chi cục An toàn vệ sinh thực phẩm, Sở y tế của tỉnh, trong giai đoạn từ 2003-2009, có 29 vụ ngộ độc nấm dẫn đến 81 người bị ngộ độc, 17 người tử vong. Đặc biệt có vụ ngộ độc nấm làm 8 người trong một gia đình bị tử vong. Hầu hết các vụ ngộ độc này đều chưa xác định được loài nấm đã gây ngộ độc.

Xuất phát từ những vấn đề nêu trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: ***“Nghiên cứu thực trạng ngộ độc nấm, đặc điểm sinh học, độc tính của một số loài nấm độc thường gặp tại tỉnh Cao Bằng”***

2. Mục tiêu

2.1. Đánh giá thực trạng ngộ độc nấm độc tại tỉnh Cao Bằng từ năm 2003 đến năm 2009 và kết quả thực trạng ngộ độc nấm sau can thiệp từ năm 2010 đến tháng 6 năm 2014.

2.2. Xác định đặc điểm hình thái và phân bố của một số loài nấm độc thường gặp tại tỉnh Cao Bằng.

2.3. Xác định độc tính cấp và sự thay đổi một số chỉ tiêu về hoá sinh, huyết học, tim mạch, mô bệnh học dưới ảnh hưởng dịch chiết của 4 loài nấm độc thường gặp trên động vật.

3. Những đóng góp mới của luận án

- Lần đầu tiên một nghiên cứu đánh giá được thực trạng ngộ độc nấm tại tỉnh Cao Bằng từ năm 2003 đến năm 2009 và kết quả tình hình ngộ độc nấm sau can thiệp từ năm 2010 đến tháng 6 năm 2014.

- Xác định, mô tả được đặc điểm hình thái, phân bố của 13 loài nấm độc thường gặp tại tỉnh Cao Bằng.

- Xác định được độc tính cấp và sự thay đổi chỉ tiêu về hoá sinh, huyết học, tim mạch, mô bệnh học dưới ảnh hưởng dịch chiết của 4 loài nấm độc thường gặp trên động vật. Trong đó nấm ô tán trắng phiến xanh gây ra nhiều vụ ngộ độc nhất, nấm độc trắng hình nón gây tử vong, nấm xốp gây nôn chưa được nghiên cứu và nấm mực chỉ thấy mọc ở Cao Bằng chưa thấy mọc ở địa phương khác.

4. Bộ cục luận án

Luận án có 148 trang, bao gồm các phần: đặt vấn đề (2 trang), tổng quan (40 trang), đối tượng và phương pháp nghiên cứu (20 trang), kết quả (42 trang), bàn luận (40 trang), kết luận (3 trang), kiến nghị (1 trang). Luận án có 35 bảng, 3 biểu đồ, 54 hình ảnh, 138 tài liệu tham khảo trong đó có 19 tài liệu tiếng Việt, 119 tài liệu tiếng Anh, 61 tài liệu từ năm 2010 trở lại đây.

CHƯƠNG 1- TỔNG QUAN

1.1. Khái niệm về nấm độc

Nấm độc là loài nấm có chứa độc tố gây ngộ độc cho cơ thể con người và động vật khi ăn phải. Trước đây người ta xếp nấm vào giới thực vật nhưng ngày nay tách riêng thành giới nấm. Trên thế giới hiện nay có gần 140.000 loài nấm đã được xác định danh tính, trong đó có khoảng 2000 loài nấm ăn được, 700 loài có hoạt chất có thể dùng trong điều trị bệnh và rất nhiều loài nấm độc. Theo Trịnh Tam Kiệt (1996), Việt Nam có 826 loài nấm lớn được ghi nhận, trong đó có 512 loài mới được phát hiện trên lãnh thổ Việt Nam. Một số loài nấm độc có trong danh mục các loài nấm này.

1.2. Phân loại nấm độc

* Phân loại nấm độc theo độc tố chứa trong nấm:

Nấm độc bao gồm rất nhiều loài với đặc điểm hình thái, thành phần độc tố và đặc điểm tác dụng lên cơ thể cũng rất khác nhau, vì vậy có nhiều cách phân loại nấm độc. Các nhà khoa học Mỹ (Fischer D.W., Bessette A.E.-1992, Cope R.B.-2007) đã phân loại nấm độc theo độc tố có chứa trong nấm. Theo cách phân loại này, nấm độc được chia ra làm 8 loại: Amatoxin (cyclopolypeptid), gyromitrin (monomethylhydrazin), orellanin, muscarin, ibotenic acid và muscimol, coprin, psilocybin và psilocin, độc tố gây rối loạn đường tiêu hóa.

1.3. Những nghiên cứu về nấm độc trên thế giới

1.3.1. Những nghiên cứu về nấm độc chứa độc tố amatoxin

Các loài nấm độc chứa amatoxin gây nên 90 - 95% trường hợp tử vong do ngộ độc nấm trên thế giới, vì vậy đã có nhiều công trình nghiên cứu về các loài nấm này. Amatoxin là tên gọi chung của các loại độc tố có chứa trong nấm độc thuộc các chi *Amanita*, *Galerina* và *Lepiota*. Amatoxin có chứa trong toàn bộ phần thể quả của nấm (mũ, phiến, cuống) và thể sợi (rễ nấm).

Amatoxin bao gồm 8 loại: α -amanitin, β -amanitin, γ -amanitin, ϵ -amanitin, amanullin, amanullinic acid, proamanullin, amanin và 7 loại phalloxin: phalloidin, phalloid, prophalloin, phallisin, phallacin, phallacidin, phallisacin. Virotoxin cũng được tìm thấy trong các loài nấm này.

1.3.2. Những nghiên cứu về nấm độc chứa độc tố muscarin

Nhóm nấm có chứa muscarin thường gặp ở các loài nấm thuộc chi *Inocybe*, *Clitocybe* và *Omphalotus*. Chi *Inocybe*: *Inocybe patouillardii*; *Inocybe fastigiata* (*Inocybe rimosa*),... Chi *Clitocybe*: *Clitocybe dealbata*, *Clitocybe cerussata*,... Chi *Omphalotus*: *Omphalotus olearius*; *Omphalotus illudens*...

Tất cả các loài nấm thuộc chi *Inocybe* đều có độc tố. Trước đây người ta cho rằng loài nấm độc đỏ (*Amanita muscaria*) gây nên các triệu chứng ngộ độc muscarin. Tuy nhiên, phân tích định lượng các hoạt chất trong nấm *Amanita muscaria*, hàm lượng muscarin có trong nấm *Amanita muscaria* rất thấp (khoảng 0,0003% trọng lượng tươi) không đủ để gây ngộ độc dù ăn với khối lượng lớn. Muscarin có hàm lượng cao chủ yếu trong các loài nấm thuộc chi *Inocybe* và *Clitocybe*.

1.3.3. Những nghiên cứu về nấm độc chứa độc tố coprin

Nhóm nấm độc chứa coprin đa số thuộc chi *Coprinus*. Một vài loài nấm có thể gây ngộ độc như: Nấm mực (*Coprinus atramentarius*), nấm mực nhỏ mọc cụm (*Coprinus disseminatus*), *Coprinus micaceus*, *Coprinus fuscescens*, *Coprinus insignis*.... Ngoài ra, loài nấm *Clitocybe clavipes* thuộc chi *Clitocybe* cũng gây ngộ độc tương tự như loài nấm có chứa coprin mặc dù người ta không thấy có coprin trong loài nấm này.

1.3.4. Những nghiên cứu về nấm ô tán trắng phiến xanh (*Chlorophyllum molybdites*), độc tố gây rối loạn tiêu hóa

Nấm ô tán trắng phiến xanh, là loài nấm gây ra nhiều vụ ngộ độc nhất ở nhiều nước trên thế giới và một số tỉnh tại Việt Nam. Cho tới năm 2004 Kobayashi Y. và CS (Nhật Bản) mới tách chiết và tinh chế

từ nấm này một loại lectin là *N*-Glycolylneuraminic acid. Năm 2009 – 2010, Gong Q.F. và CS đã tách được 4 hợp chất từ thể sợi (rễ) của nấm này là 5,6,(22*E*,24*R*)-5 α ,6 α -epoxyergosta-8, 22-diene-3 β ,7 α -diol, (22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-dien-3 β -ol. Yamada M. và CS (2012), đã tách chiết được một loại protein độc và đặt tên là molybdophyllysin. Yoshikawa K. (2001), đã chiết được 2 dẫn chất steroid là (22*E*,24*R*)-3 α -ureido-ergosta-4, 6, 8 (14), 22-tetraene và (22*E*,24*R*)-5 α , 8 α -epidioxyergosta-6,9,22-triene-3 β -ol-3-*O*- β -*D*-glucopyranoside.

1.4. Những nghiên cứu về nấm độc ở Việt Nam

1.4.1. Những nghiên cứu về đặc điểm, phân bố, độc tính của nấm độc

Các công trình nghiên cứu về nấm lớn ở Việt Nam chủ yếu của các nhà sinh học, dược học về định danh loài nấm, xác định sự phân bố ở các vùng sinh thái khác nhau và nghiên cứu nhân giống nuôi trồng các loài nấm làm thực phẩm và dược liệu. Trong “Danh lục nấm lớn của Việt Nam” (1996) của Trịnh Tam Kiệt có liệt kê tên, phân bố 826 loài nấm lớn, trong đó có tên khoảng 20 loài nấm độc. Trần Công Khánh, Phạm Hải (2004) mô tả hình thái một số loài nấm độc thường gặp. Từ năm 2007 – 2008, Hoàng Công Minh và CS đã tiến hành điều tra xác định các loài nấm thường gây ngộ độc ở tỉnh Hà Giang. Nghiên cứu đã phát hiện được 9 loài nấm độc, trong đó có 2 loài nấm thường gây ra các vụ ngộ độc. Tại Hà Giang đã phát hiện thấy loài nấm chứa amatoxin gây tử vong là nấm độc tán trắng (*Amanita verna*). Hoàng Công Minh (2009) đã nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết loài nấm này trên thỏ thấy AST, ALT, bilirubin, urê, creatinin tăng cao, hồng cầu, huyết sắc tố giảm, thời gian máu đông, máu chảy kéo dài sau ngộ độc.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

* 93 người bị ngộ độc nấm tại các địa phương thuộc tỉnh Cao Bằng, trong đó 81 người từ năm 2003 đến năm 2009 khi chưa có giải pháp can thiệp truyền thông và 12 người từ năm 2010 đến tháng 6 năm 2014 sau khi có giải pháp can thiệp truyền thông.

* Các mẫu nấm độc mọc tại một số khu vực đại diện thuộc tỉnh Cao Bằng.

* Động vật thí nghiệm:

+ Chuột nhắt trắng dòng Swiss : 1280 con, khoẻ mạnh, trọng lượng trung bình 20 ± 2 gam (không tính số chuột nhắt trắng dùng cho thăm dò liều gây ngộ độc). Chuột nhắt trắng dùng để xác định độc tính

(Liều chết trung bình - LD₅₀) và nghiên cứu mô bệnh học đối với bốn loài nấm độc.

+ Thỏ: 60 con, khoẻ mạnh, trọng lượng $2,0 \pm 0,2$ kg (không tính số thỏ dùng cho xác định liều chết tối thiểu (LD_{min}). Thỏ dùng để nghiên cứu các chỉ tiêu hoá sinh và huyết học của 4 loài nấm.

+ Chuột cống trắng dòng Wistar: 60 con, khoẻ mạnh, trọng lượng 200 ± 20 gam (không tính số chuột cống trắng dùng để xác định liều chết tối thiểu (LD_{min}). Chuột cống trắng dùng để nghiên cứu về mạch, huyết áp cho 4 loài nấm.

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Phương pháp điều tra các trường hợp ngộ độc nấm độc

Giai đoạn 1 từ năm 2003 đến năm 2009, điều tra ngộ độc nấm độc theo phương pháp điều tra cắt ngang, hồi cứu hồ sơ, số liệu, phỏng vấn các người ngộ độc nấm và người nhà theo mẫu phiếu thu thập thông tin tại các gia đình người bị ngộ độc nấm độc ở các địa phương thuộc tỉnh Cao Bằng. Giai đoạn 2 từ năm 2010 đến tháng 6 năm 2014, điều tra ngộ độc nấm độc theo báo cáo thống kê ngộ độc nấm rừng, thực vật độc của Chi cục vệ sinh an toàn thực phẩm Sở y tế tỉnh Cao Bằng (sau can thiệp bằng giải pháp truyền thông).

2.2.2. Phương pháp điều tra nấm độc

Điều tra nấm độc theo mẫu phiếu điều tra tại thực địa, nơi người dân đã hái nấm về ăn và bị ngộ độc. Tại các địa phương không có vụ ngộ độc nấm, chúng tôi đến các khu vực có mọc nhiều loài nấm theo chỉ dẫn của của chính quyền, cán bộ trạm y tế và người dân trong xã.

2.2.3. Phương pháp xác định loài nấm

Loài nấm được xác định theo phương pháp Trịnh Tam Kiệt, Kuo M., xác định dựa theo các đặc điểm riêng về hình thái, bào tử, phản ứng với hóa chất khi đối chiếu với mẫu nấm chuẩn. Các đặc điểm cần mô tả như: mũ nấm, phiến nấm, cuống nấm.....

2.2.4. Phương pháp nghiên cứu độc tính, ảnh hưởng dịch chiết của 4 loài nấm độc trên động vật

2.2.4.1. Phương pháp chiết mẫu nấm độc

* Phương pháp chiết đối với nấm khô:

+ Nấm khô, cân trọng lượng, nghiền nhỏ thành bột cho vào bình. Tùy từng loại nấm mà có thể cho methanol, nước ngâm trong 24 giờ. Chiết lấy toàn bộ dung môi. Tiếp tục cho methanol, nước vào bình ngâm chiết thêm 2 lần nữa với cách làm như trên để chiết kiệt hoạt chất trong mẫu nấm.

+ Gom tất cả dung môi vào một bình, sục khí đuổi dung môi cho bốc hơi nước để thu cặn. Cặn còn lại trong bình là tổng lượng các loại hoạt chất có trong mẫu nấm, cân trọng lượng cặn tính toán quy ra tương đương với trọng lượng nấm ban đầu.

+ Pha chế cặn với nước cất để tạo thành dung dịch chiết. Trước khi cho động vật uống hoặc tiêm ổ bụng, dịch chiết được đun sôi trong ống nghiệm, để nguội đảm bảo vô khuẩn.

* Phương pháp chiết đối với nấm tươi:

+ Mẫu nấm tươi được bảo quản trong cồn 70⁰ (cân trọng lượng nấm trước khi ngâm trong cồn). Lấy mẫu nấm từ bình ngâm cho vào cối sứ, nghiền nát thành hỗn dịch dạng huyền phù. Chắt lọc lấy hỗn dịch cho vào bình riêng. Cặn còn lại trong bình được tráng bằng một lượng nước cất nhất định sau đó cho vào cối sứ. Tiếp tục cho nước cất vào cối sứ có bã nấm và nghiền nhuyễn mẫu nấm cùng với nước, chắt lọc như trên lần 2, lần 3 để chiết kiệt hoạt chất.

+ Gộp toàn bộ dịch chiết, lọc qua giấy lọc để thu được dịch chiết chứa hoạt chất nấm độc. Sục khí cho bốc hơi hết cồn và hơi nước để thu lấy cặn hoạt chất của dịch chiết. Cân trọng lượng cặn tính toán quy ra tương đương với trọng lượng nấm ban đầu.

+ Cặn của dịch chiết được pha chế để nghiên cứu trên động vật. Đảm bảo dịch chiết vô khuẩn bằng cách đun sôi để nguội trước khi tiêm hoặc cho động vật uống.

2.2.4.2. Phương pháp nghiên cứu độc tính cấp của 4 loài nấm độc trên chuột nhắt trắng

* Phương pháp gây ngộ độc trên chuột nhắt trắng

+ Phương pháp gây ngộ độc cấp qua đường tiêu hóa: dùng dụng cụ chuyên dụng bơm dịch chiết của 4 loài nấm độc được nghiên cứu: Nấm độc trắng hình nón (*Amanita virosa*), nấm ô tán trắng phiến xanh (*Chlorophyllum molybdites*), nấm xộp gây nôn (*Russula emetica*) và nấm mực (*Coprinus atramentarius*) vào dạ dày chuột nhắt trắng.

+ Phương pháp gây ngộ độc cấp qua đường tiêm ổ bụng chỉ nghiên cứu đối với loài nấm độc trắng hình nón (*Amanita virosa*) do độc tố của loài nấm này là amatoxin hấp thu kém qua đường tiêu hóa của chuột nhắt trắng, nên ngoài đường tiêu hóa sẽ nghiên cứu thêm độc tính qua đường tiêm ổ bụng chuột nhắt trắng:

* Phương pháp xác định liều chết trung bình (LD₅₀)

LD₅₀ chuột nhắt trắng được xác định theo phương pháp Karber G

2.2.4.3. Phương pháp tiến hành các chỉ tiêu hóa sinh, huyết học

Các chỉ tiêu hoá sinh, huyết học được nghiên cứu ở thời điểm trước và sau ngộ độc vào buổi sáng ở các ngày thứ 1, 5 và 10 sau khi gây ngộ độc.

Lấy máu tĩnh mạch tai thỏ, mỗi con 2 ml vào ống nghiệm để xác định các chỉ tiêu hóa sinh, huyết học trước khi gây ngộ độc. Tiến hành gây ngộ độc thỏ ở liều bằng 2/3 liều chết tối thiểu (LD_{min}) ở mỗi loài nấm độc (thăm dò liều trước khi thí nghiệm). Ở liều này thỏ bị ngộ độc nhưng không bị chết để có thể theo dõi và lấy máu xét nghiệm ở các thời điểm sau ngộ độc. Cụ thể liều từng loài nấm độc gây độc trên thỏ thí nghiệm:

+ Nấm độc trắng hình nón (*Amanita virosa*) khô: 0,618 g/kg thể trọng qua đường tiêm ổ bụng.

+ Nấm ô tán trắng phiến xanh (*Chlorophyllum molybdites*) khô: 5,734 g/kg thể trọng qua đường uống.

+ Nấm xộp gây nôn (*Russula emetica*) khô: 6,628 g/kg thể trọng qua đường uống.

+ Nấm mực (*Coprinus atramentarius*) khô: 4,504 g/kg thể trọng qua đường uống kèm 5 ml rượu 40⁰/kg thể trọng.

+ Riêng đối với nấm mực làm thêm nhóm chứng và nhóm cho thỏ uống rượu liều 5 ml rượu 40⁰/kg thể trọng.

- Ly tâm máu lấy huyết thanh. Đưa ống chứa huyết thanh vào máy máy phân tích hoá sinh (CHEMIX-180), huyết học (XE 2100) tự động (Nhật Bản) tại phòng xét nghiệm hóa sinh huyết học của Trung tâm nghiên cứu Y dược học Quân sự Học viện Quân y, để xác định các chỉ tiêu xét nghiệm.

2.2.4.4. Nghiên cứu các chỉ tiêu tim mạch trên chuột cống trắng của 4 loài nấm độc

* Phương pháp tiến hành các chỉ tiêu tim mạch:

Mạch, huyết áp chuột cống được đo ở thời điểm trước ngộ độc và sau ngộ độc ở các thời điểm 1 giờ, 6 giờ và 24 giờ.

Mạch, huyết áp đuôi chuột cống được xác định trên thiết bị chuyên dụng tự động đo mạch, huyết áp đuôi chuột cống của hãng Ugo Basile (Italy) của Bộ môn Độc học và phóng xạ Quân sự Học viện Quân y.

2.2.4.5. Phương pháp nghiên cứu mô bệnh học gan, thận, lách

Nấm độc trắng hình nón, nấm ô tán trắng phiến xanh, nấm xộp gây nôn và nấm mực, được nghiên cứu mô bệnh học về đại thể và vi thể trên nhóm đối chứng và nhóm gây ngộ độc chuột nhắt trắng với liều bằng 1 liều chết trung bình (LD_{50}), cụ thể là:

- + Nấm độc trắng hình nón khô: 0,322 g/kg thể trọng qua đường tiêm ổ bụng.
- + Nấm ô tán trắng phiến xanh khô: 3,718 g/kg thể trọng qua đường uống.
- + Nấm xộp gây nôn khô: 4,838 g/kg thể trọng qua đường uống.
- + Nấm mực khô: 2,976 g/kg thể trọng qua đường uống và cho uống kèm 5 ml rượu 40⁰/kg thể trọng (riêng đối với nấm mực làm thêm nhóm đối chứng và nhóm cho chuột cống uống rượu liều 5 ml rượu 40⁰/kg thể trọng).

Các bước tiến hành như sau:

Giết chuột và phẫu tích lấy gan, thận, lách cho vào lọ có chứa dung dịch cố định. Đúc khối parafin, cắt lát dày 5 - 6 μ m trên máy Microtome. Nhuộm lát cắt theo phương pháp nhuộm hematoxylin - eosine. Quan sát hình thái mẫu vật trên kính hiển vi. Chụp ảnh màu để minh họa.

Phần thực nghiệm gây ngộ độc, phẫu tích lấy gan, thận, lách cho vào dung dịch cố định được tiến hành tại Bộ môn Độc học và phóng xạ Quân sự, Học viện Quân y.

Kỹ thuật đúc khối parafin, cắt lát, nhuộm tiêu bản, quan sát hình thái tổn thương trên kính hiển vi, đọc kết quả và chụp ảnh được tiến hành tại khoa Giải phẫu bệnh và Y pháp, Bệnh viện Quân y 103.

2.3. Xử lý số liệu

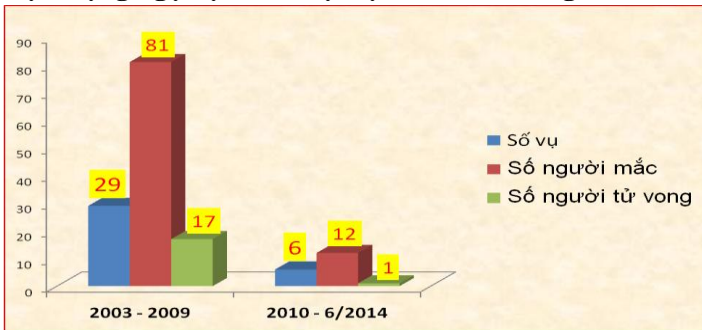
Các số liệu được xử lý bằng phương pháp thống kê y, sử dụng phần mềm Excel, Epical 2000, EpiInfo 3.5.4.

2.4. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu

Đảm bảo y đức trong nghiên cứu

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Thực trạng ngộ độc nấm độc tại tỉnh Cao Bằng



Biểu đồ 3.1. Phân bố số vụ ngộ độc, số người mắc, tử vong do ăn nấm độc

Bảng 3.1. Phân bố tỷ lệ số vụ, số người bị ngộ độc và tử vong do ăn nấm độc tại các huyện của tỉnh Cao Bằng

Số TT	Huyện, thị	Số vụ ngộ độc	Số người bị ngộ độc	Tỷ lệ (%)	Số người bị tử vong
1	Thạch An	6	18	22,2	1
2	Bảo Lạc	4	17	21,0	5
3	Trà Lĩnh	2	10	12,4	8
4	Nguyên Bình	3	7	8,7	0
5	Hòa An	5	6	7,4	1
6	Hạ Lang	2	6	7,4	0
7	Hà Quảng	2	6	7,4	0
8	Phục Hòa	2	5	6,2	0
9	Trùng Khánh	1	4	4,9	2
10	Bảo Lâm	1	1	1,2	0
11	Thông Nông	1	1	1,2	0
Tổng số		29	81	100	17

3.2. KẾT QUẢ ĐIỀU TRA NẤM ĐỘC TẠI CAO BẰNG

3.2.1. Danh mục và sự phân bố các loài nấm độc tại Cao Bằng

Nghiên cứu đã phát hiện được 13 loài nấm độc. Phân bố của các loài nấm độc mọc ở nhiều xã, huyện trong tỉnh Cao Bằng. Có loài nấm phát hiện ở tất cả các huyện như nấm ô tán trắng phiến xanh. Có loài nấm chỉ thấy mọc ở một địa phương điều tra như nấm mũ khía nâu xám và nấm độc trắng hình nón.

Bảng 3.10. Danh mục và sự phân bố các loài nấm độc theo địa phương.

TT	Tên tiếng Việt (tên khác)	Tên khoa học; Họ	Phân bố
1	Nấm độc tán trắng	<i>Amanita verna</i> (Bull.:Fr) Roques. Họ: nấm tán (Amanitaceae)	Xã Quang Vinh, huyện Trà Lĩnh. Xã Chí Viễn huyện Trùng Khánh Xã Phan Thanh huyện Bảo Lạc. Xã Hồng Nam huyện Hòa An.
2	Nấm độc trắng hình nón	<i>Amanita virosa</i> Lam. Ex Secr., Họ: nấm tán (Amanitaceae)	Xã Lê Lai, Minh Khai huyện Thạch An
3	Nấm mũ khía nâu xám	<i>Inocybe fastigiata</i> (Schaeff.:Fr) Quel hoặc <i>Inocybe rimosa</i> (Bull.:Fr) Kumm. Họ: nấm ri sắt (Cortinariaceae)	Khu 7, thị trấn Bảo Lạc

TT	Tên tiếng Việt (tên khác)	Tên khoa học; Họ	Phân bố
4	Nấm ô tán trắng phiến xanh	<i>Chlorophyllum molybdites</i> . Họ: nấm ô (Leptotaceae)	Tất cả các huyện được điều tra và nhiều nhất ở huyện Hòa An, Thạch An, và Hạ Lang
5	Nấm xộp gây nôn	<i>Russula emetica</i> (Schaeff) Fr., Họ: nấm xộp (Russulaceae)	Xã Chí Viễn huyện Trùng Khánh Xã Cách Linh huyện Phục Hòa. Xã An Lạc, Thị Hoa, Hạ Lang Xã Cô Ba huyện Bảo Lạc
6	Nấm xộp thổi	<i>Russula foetens</i> (Pers.) Fr., Họ: nấm xộp (Russulaceae)	Xã Ngọc Khê, Chí Viễn huyện Trùng Khánh. Xã Đào Ngạn huyện Hà Quảng Xã Yên Thổ huyện Bảo Lâm
7	Nấm trứng vàng vỏ cứng	<i>Scleroderma citrinum</i> Pers. hoặc <i>Scleroderma aurantium</i> Pers. Họ: nấm vỏ cứng (Sclerodermataceae)	Xã Chí Viễn huyện Trùng Khánh Xã Lê Lai huyện Thạch An Xã Sơn Lộ, Cô Ba - Bảo Lạc Xã Minh Tâm, Hưng Đạo huyện Nguyên Bình
8	Nấm phiến đen chân vàng	<i>Agaricus xanthodermus</i> Genev. Họ: nấm phiến đen (Agaricaceae)	Ngọc Khê huyện Trùng Khánh Xã Thị Hoa huyện Hạ Lang Xã Cô Ba huyện Bảo Lạc
9	Nấm phiến đốm bướm	<i>Panaeolus papilionaceus</i> (Bull. Ex Fr.) Qué!, Họ: nấm mực (Coprinaceae)	Xã Cách Linh, Triệu Âu huyện Phục Hòa. Xã Bảo Toàn, Sơn Lộ - Bảo Lạc
10	Nấm phiến đốm vân lưới	<i>Panaeolus retirugis</i> (Fr.) Qué!. Họ: nấm mực (Coprinaceae)	Xã Đào Ngạn - Hà Quảng. Xã An Lạc, Thị Hoa - Hạ Lang.
11	Nấm phiến đốm chuông	<i>Panaeolus campanulatus</i> (Bull.) Qué!, hoặc: <i>Panaeolus sphinctrinus</i> (Fr.) Qué!., Họ: nấm mực (Coprinaceae)	Xã Chí Viễn - Trùng Khánh. Xã Lê Lai - Thạch An. Xã Quảng Lâm - Bảo Lâm. Xã Thị Hoa- Hạ Lang. Xã Minh Tâm - Nguyên Bình. Xã Minh Khai - Thạch An.
12	Nấm mực	<i>Coprinus atramentarius</i> (Bull.: Fr) Fr. Họ: nấm mực (Coprinaceae)	Xã Minh Tâm, Hưng Đạo huyện Nguyên Bình. Xã Đào Ngạn huyện Hà Quảng.
13	Nấm mực nhỏ mọc cụm	<i>Coprinus disseminatus</i> (Pers. ex Fr.) S. F. Gray Họ: nấm mực (Coprinaceae)	Xã Trường Hà huyện Hà Quảng. Xã Yên Thổ huyện Bảo Lâm. Xã An Lạc, Thị Hoa huyện Hạ Lang.

3.3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CỦA MỘT SỐ LOÀI NẤM ĐỘC TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

3.3.1. Kết quả nghiên cứu về nấm độc trắng hình nón (*Amanita virosa*)

* Độc tính cấp của nấm độc trắng hình nón

Bảng 3.11. LD₅₀ của nấm độc trắng hình nón đối với chuột nhắt trắng

Chỉ số độc tính	Trọng lượng nấm (g/kg thể trọng)
LD ₅₀ qua đường tiêm ổ bụng đối với nấm khô	0,322
LD ₅₀ qua đường tiêm ổ bụng đối với nấm tươi	3,270
LD ₅₀ qua đường tiêu hoá đối với nấm khô	3,896
LD ₅₀ qua đường tiêu hoá đối với nấm tươi	28,632

* Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết nấm độc trắng hình nón lên một số xét nghiệm hoá sinh trên thỏ

Bảng 3.12. Sự thay đổi một số xét nghiệm hóa sinh trên thỏ ($\bar{X} \pm SD$; n = 10)

Chỉ số NC	Trước ND	Sau khi bị ngộ độc (ngày thứ)		
		1	5	10
AST (U/l)	50,4 ± 7,8	226,8 ± 25,4	1093,9 ± 112,6	435,4 ± 51,7
		p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
ALT (U/l)	62,3 ± 9,5	432,7 ± 51,2	798,5 ± 90,3	371,9 ± 45,6
		p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
GGT (U/l)	18,2 ± 3,4	75,4 ± 8,0	113,6 ± 12,3	45,2 ± 5,4
		p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
Bilirubin TP (μmol/l)	4,77 ± 0,65	9,22 ± 0,97	47,38 ± 5,36	22,45 ± 2,38
		p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
Glucose (mmol/l)	6,81 ± 0,55	7,94 ± 0,82	4,13 ± 0,49	5,42 ± 0,59
		p < 0,01	p < 0,001	p < 0,001
Urê (mmol/l)	5,73 ± 0,67	7,56 ± 0,81	14,71 ± 1,63	9,24 ± 0,82
		p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
Creatinin (μmol/l)	66,8 ± 6,91	95,9 ± 9,67	172,3 ± 18,77	99,7 ± 11,59
		p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001

*** Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết nấm độc trắng hình nón lên một số chỉ tiêu huyết học trên thỏ**

Bảng 3.13. Sự thay đổi số lượng hồng cầu, tiểu cầu, bạch cầu, hàm lượng huyết sắc tố ($\bar{X} \pm SD$, n = 10)

Chỉ số nghiên cứu	Trước ND	Sau khi bị ngộ độc (ngày thứ)		
		1	5	10
Hồng cầu (T/L)	4,62 ± 0,41	4,97 ± 0,56	3,41 ± 0,52	3,89 ± 0,42
		p>0,05	p<0,001	p<0,01
Huyết sắc tố (g/l)	97,3 ± 9,2	111,0 ± 12,3	76,7 ± 8,2	88,5 ± 9,0
		p<0,05	p<0,001	p<0,05
Tiểu cầu (G/L)	284,6 ± 31,5	295,2 ± 34,8	194,5 ± 26,7	234,6 ± 31,9
		p>0,05	p<0,001	p<0,01
Số lượng bạch cầu (G/L)	8,65 ± 0,81	13,04 ± 1,42	11,34 ± 0,98	9,45 ± 0,93
		p<0,001	p<0,001	p>0,05

*** Hình ảnh mô bệnh học gan, thận, lách chuột nhắt trắng bị ngộ độc nấm độc trắng hình nón (Amanita virosa) ở ngày thứ 10 sau ngộ độc**

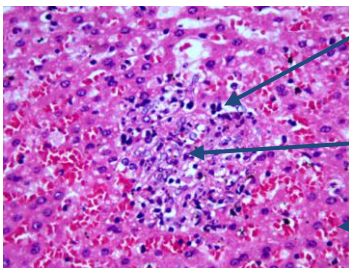
+ Hình ảnh mô bệnh học (đại thể và vi thể) gan chuột nhắt trắng



Ảnh 3.31. Hình ảnh đại thể gan chuột nhắt trắng bình thường.



Ảnh 3.32. Hình ảnh đại thể gan chuột nhắt trắng bị ngộ độc nấm độc trắng hình nón



Nhân tế bào gan bị vỡ, đồng vón

Ô hoại tử tế bào gan

Vùng xuất huyết

Ảnh 3.35. Hình ảnh gan chuột nhắt trắng bị ngộ độc nấm độc trắng hình nón.

HE, 400x

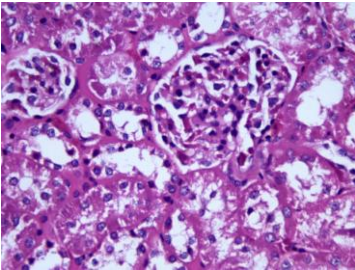
+ Hình ảnh mô bệnh học (đại thể và vi thể) thận chuột nhắt trắng



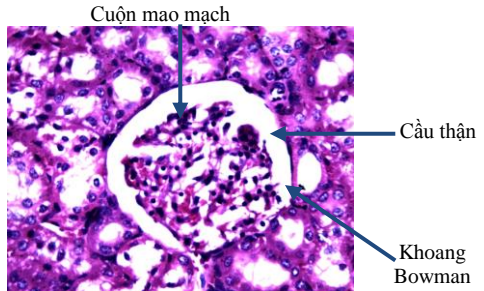
Ảnh 3.36. Hình ảnh đại thể thận chuột nhắt trắng bình thường.



Ảnh 3.37. Hình ảnh đại thể thận chuột nhắt trắng bị ngộ độc nấm độc trắng hình nón.



Ảnh 3.38. Hình ảnh vi thể vùng vỏ thận chuột nhắt trắng bình thường. HE, 400x.



Ảnh 3.39. Hình ảnh vi thể vùng vỏ thận chuột nhắt trắng bị ngộ độc nấm độc trắng hình nón. HE, 400x

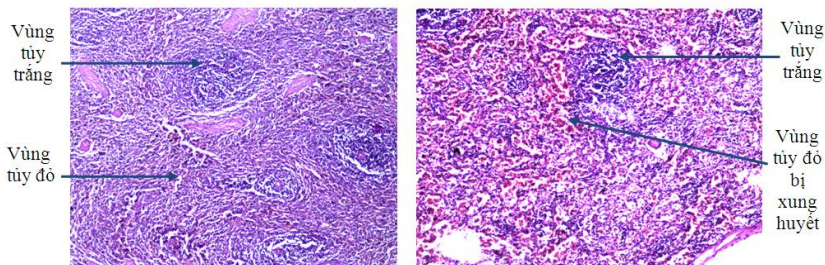
+ Hình ảnh mô bệnh học (đại thể và vi thể) lách chuột nhắt trắng bị ngộ độc nấm độc trắng hình nón



Ảnh 3.43. Hình ảnh đại thể lách chuột nhắt trắng bình thường.



Ảnh 3.44. Hình ảnh đại thể lách chuột nhắt trắng ngộ độc nấm độc trắng hình nón



Ảnh 3.45. Hình ảnh vi thể lách chuột nhắt trắng bình thường. HE, 200x.

Ảnh 3.46. Hình ảnh vi thể lách chuột nhắt trắng bị ngộ độc nấm độc trắng hình nón. HE, 200x.

3.3.2. Kết quả nghiên cứu nấm ô tán trắng phiến xanh

* Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của nấm ô tán trắng phiến xanh

Bảng 3.16. LD₅₀ đối với chuột nhắt trắng của nấm ô tán trắng phiến xanh

Chỉ số độc tính	Trọng lượng nấm (g/kg thể trọng)
LD ₅₀ qua đường tiêu hoá đối với nấm khô	3,718
LD ₅₀ qua đường tiêu hoá đối với nấm tươi	35,253

3.3.3. Kết quả nghiên cứu nấm xộp gây nôn

* Kết quả nghiên cứu độc tính của nấm xộp gây nôn

Bảng 3.21. LD₅₀ đối với chuột nhắt trắng của nấm xộp gây nôn

Chỉ số độc tính	Trọng lượng nấm (g/kg thể trọng)
LD ₅₀ qua đường tiêu hoá đối với nấm khô	4,838
LD ₅₀ qua đường tiêu hoá đối với nấm tươi	41,326

3.3.4. Kết quả nghiên cứu nấm mục

* Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của nấm mục

Bảng 3.26. LD₅₀ đối với chuột nhắt trắng của nấm mục

Chỉ số độc tính	Trọng lượng nấm (g/kg thể trọng)
LD ₅₀ qua đường tiêu hoá nấm khô	2,976
LD ₅₀ qua đường tiêu hoá nấm tươi	34,248

CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN

4.1. THỰC TRẠNG NGỘ ĐỘC NẤM ĐỘC TẠI CAO BẰNG

* Thống kê ngộ độc nấm độc

Kết quả thống kê ngộ độc nấm độc tại tỉnh Cao Bằng ở biểu đồ 3.1 cho thấy từ năm 2003 đến 2009, khi chưa có giải pháp can thiệp truyền thông, tại Cao Bằng đã xảy ra 29 vụ ngộ độc nấm độc với 81 người mắc, 17 người tử vong (21,0%), trung bình 11,6 người mắc/ năm, cao hơn nhiều so với giai đoạn từ năm 2010 đến tháng 6 năm 2014 khi đã triển khai giải pháp can thiệp truyền thông: 06 vụ ngộ độc nấm độc, 12 người mắc, 01 người tử vong (8,3%), trung bình 2,4 người mắc/ năm.

Công tác tuyên truyền về phòng chống ngộ độc nấm độc cho các đồng bào dân tộc ở tuyến xã còn yếu kém. Các phương tiện truyền thông như: Tờ rơi, tranh ảnh nấm..., không phải loài nấm có mọc ở địa phương, nên dễ nhầm với các loài nấm ăn được. Từ năm 2010 đến tháng 6 năm 2014 khi giải pháp can thiệp truyền thông được triển khai đồng bộ như: Các tranh ảnh, tờ rơi có hình ảnh nấm mọc tại tỉnh Cao Bằng, cán bộ y tế được tập huấn về chẩn đoán, điều trị ngộ độc nấm, nên đã góp phần làm giảm số vụ ngộ độc nấm, số người mắc và tỷ lệ tử vong do nấm độc tại Cao Bằng.

* Dịch tễ

Các bệnh nhân trong nghiên cứu có ở khắp các huyện của tỉnh Cao Bằng. Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.1 cho thấy, ngộ độc nấm độc xảy ra ở 11/12 huyện của tỉnh Cao Bằng. Tháng 3 năm 2014 có 2 bệnh nhân ở huyện Quảng Uyên bị ngộ độc nấm độc, 1 bệnh nhân tử vong ngày thứ năm của bệnh. Như vậy, ngộ độc nấm độc đã xảy ra ở tất cả các huyện thị của tỉnh Cao Bằng.

4.2. KẾT QUẢ ĐIỀU TRA CÁC LOÀI NẤM ĐỘC MỘC TẠI CAO BẰNG

* Kết quả điều tra các loài nấm độc

Cao Bằng là một tỉnh biên giới có nhiều rừng và có nhiều loài nấm mọc. Theo các tác giả trong và ngoài nước, cùng một loài nấm độc nhưng mọc ở vùng có khí hậu, thổ nhưỡng khác nhau thì hình dạng, độ lớn, gam màu có thể cũng khác nhau. Qua điều tra đã phát hiện thấy 13

loài nấm độc, trong đó có 2 loài nấm chứa độc tố amatoxin là nấm độc tán trắng (*Amanita verna*), nấm độc trắng hình nón (*Amanita virosa*), 1 loài nấm có chứa độc tố muscarin là nấm mũ khía nâu xám (*Inocybe fastigiata* hay *Inocybe rimosa*) và 5 loài nấm gây rối loạn tiêu hóa là nấm ô tán trắng phiến xanh (*Chlorophyllum molybdites*), nấm xộp gậy nôn (*Russula emetica*), nấm xộp thối (*Russula foetens*), nấm trứng vàng vỏ cứng (*Scleroderma citrinum*), nấm phiến đen chân vàng (*Agaricus xanthodermus*), 3 loài nấm có chứa psilocybin và psilocin gây rối loạn tâm thần là nấm phiến đốm bướm (*Panaeolus papilionaceus*), nấm phiến đốm vân lưới (*Panaeolus retirugis*), nấm phiến đốm chuông (*Panaeolus campanulatus*), 2 loài nấm có chứa độc tố coprin (chỉ gây ngộ độc nếu kèm theo uống rượu) là nấm mực (*Coprinus atramentarius*) và nấm mực nhỏ mọc cụm (*Coprinus disseminatus*).

Phân bố của 13 loài nấm độc rất khác nhau. Nhiều loài nấm được phát hiện ở tất cả các huyện điều tra như nấm ô tán trắng phiến xanh (*Chlorophyllum molybdites*). Tuy nhiên, cũng có những loài nấm chỉ thấy ở một địa phương như: Nấm mũ khía nâu xám (*Inocybe fastigiata*) được phát hiện thấy mọc ở Bảo Lạc. Nấm độc trắng hình nón (*Amanita virosa*) tìm thấy ở huyện Thạch An.

4.3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ LOÀI NẤM ĐỘC TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

4.3.1. Độc tính và ảnh hưởng của nấm độc trắng hình nón (*Amanita virosa*) trên động vật thực nghiệm

*** Độc tính của nấm độc trắng hình nón**

Kết quả nghiên cứu độc tính của loài nấm độc trắng hình nón đã thu hái tại tỉnh Cao Bằng (bảng 3.11) cho thấy LD₅₀ của nấm độc trắng hình nón đối với chuột nhắt trắng qua đường tiêm ổ bụng là 0,322 g/kg trọng lượng đối với nấm khô và 3,270 g/kg trọng lượng đối với nấm tươi. Qua đường tiêu hoá là 3,896 g/kg trọng lượng đối với nấm khô và 28,632 g/kg đối với nấm tươi. Từ kết quả trên cho thấy nấm độc trắng hình nón có độc tính cao đối với chuột nhắt trắng qua đường tiêm ổ bụng và độc tính thấp qua đường tiêu hoá. Theo các tác giả nước ngoài,

độc tố của loài nấm độc trắng hình nón là amatoxin và đây là các cyclopolypeptid (gồm: alpha-amanitin, beta-amanitin, gamma-amanitin, epsilon-amanitin, amanullin, amanullinic acid, proamanullin). Độc tính của nấm độc tán trắng đối với các loài động vật có khác nhau là do sự hấp thu độc tố ở đường tiêu hoá có khác nhau và đặc điểm cá thể khác nhau. Sự hấp thu độc tố của các loài nấm có cyclopolypeptid ở đường tiêu hoá đối với chuột nhắt trắng và chuột cống diễn ra rất chậm. Có thể ở đường tiêu hoá chuột không có các chất xúc tác (chất mang) gắn với phân tử cyclopolypeptid hoặc nồng độ của các chất này rất thấp nên độ hấp thu độc tố chậm. Tại nước ngoài, các nghiên cứu về độc tính của amatoxin trên chuột nhắt trắng hoặc chuột cống thường tiến hành qua đường tiêm ổ bụng. Khác với chuột nhắt trắng và chuột cống, các loài động vật khác như chó, mèo, chuột lang hấp thu rất nhanh các phân tử cyclopolypeptid vì vậy độc tính của nấm độc tán trắng qua đường tiêu hoá đối với các loài nấm này rất cao. Theo các tác giả nước ngoài, liều chết của amatoxin đối với người qua đường tiêu hoá khoảng 0,1 mg/kg thể trọng. Đối với chó, mèo, chuột lang LD₅₀ khoảng 0,3 - 0,5 mg/kg thể trọng. Nồng độ amatoxin trong nấm độc trắng hình nón nằm trong khoảng 5 - 15 mg/ 40 gam nấm tươi. Như vậy, chỉ cần ăn một cây nấm độc tán trắng có thể bị tử vong.

Kết quả nghiên cứu độc tính của nấm độc trắng hình nón cho thấy loài nấm này ở dạng tươi và dạng sấy khô đều có độc tính. Amatoxin có trong nấm là loại độc tố bền với nhiệt (đun sôi nhiều giờ không mất độc tính) và lưu giữ ở dạng khô qua 10 năm vẫn không mất độc tính.

*** Ảnh hưởng của dịch chiết nấm độc trắng hình nón lên một số chỉ tiêu hoá sinh**

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.12 cho thấy: AST, ALT, GGT và bilirubin toàn phần trong huyết thanh thỏ bị ngộ độc nấm độc trắng hình nón (*A.virosa*) tăng rất cao ở tất cả các thời điểm nghiên cứu so với trước khi bị ngộ độc nấm. Ngay ở ngày thứ 1 sau ngộ độc, hoạt độ AST huyết thanh tăng cao gấp 4 lần và ALT tăng gấp 7 lần so với trước ngộ độc. Ở ngày thứ 5 sau ngộ độc, hoạt độ AST huyết thanh tăng gấp 21 lần và ALT tăng gấp 13 lần so với trước khi ngộ độc và hoạt độ

AST tăng cao hơn ALT. Điều này chứng tỏ tế bào gan bị tổn thương nặng, hoại tử tế bào gan. Khi tế bào gan bị hoại tử, ty lạp thể bị phá huỷ làm cho AST từ ty lạp thể thoát ra ngoài máu cộng với AST có trong bào tương dẫn tới AST huyết thanh tăng cao hơn ALT. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với các tác giả nước ngoài, rằng những bệnh nhân bị ngộ độc các loài nấm có chứa amatoxin như nấm độc tán trắng (*Amanita verna*), nấm độc trắng hình nón (*Amanita virosa*), nấm độc xanh đen (*Amanita phalloides*)... tổn thương của gan thường rất nặng với các biểu hiện hủy hoại tế bào gan, suy chức năng gan, suy giảm các yếu tố đông máu đặc biệt là yếu tố đông máu do gan tổng hợp và những yếu tố đông máu phụ thuộc vitamin K. Tổn thương do độc tố của nấm có thể gây hậu quả rối loạn đông máu, chảy máu, hôn mê gan, suy đa tạng. Trước đây, phần lớn các bệnh nhân bị suy gan do nấm độc đều tử vong.

Về ảnh hưởng của dịch chiết nấm độc trắng hình nón lên một số chỉ tiêu đánh giá chức năng thận, kết quả nghiên cứu ở bảng 3.11 cho thấy nồng độ urê và creatinin trong máu thỏ bị ngộ độc cấp nấm độc trắng hình nón tăng cao có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$) so với thời điểm trước ngộ độc ở tất cả các thời điểm nghiên cứu ngày thứ nhất, thứ 5 và ngày thứ 10 sau ngộ độc. Như vậy, độc tố của nấm độc trắng hình nón gây tổn thương tới tế bào thận.

Về ảnh hưởng của dịch chiết nấm độc trắng hình nón lên nồng độ glucose: Kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ glucose trong máu tăng so với thời điểm trước ngộ độc ở ngày thứ nhất và giảm ở ngày thứ 5, thứ 10 sau ngộ độc. Nồng độ glucose giảm có thể do gan bị tổn thương dẫn đến giảm tổng hợp enzym xúc tác phân giải glycogen ở gan và quá trình phân giải glucogen ở gan bị rối loạn, gan bị hoại tử làm cho nồng độ glycogen ở tế bào gan giảm, sau khi bị ngộ độc, động vật bỏ ăn nên lượng thức ăn cung cấp từ bên ngoài cho cơ thể giảm và amatoxin gây tổn thương đường tiêu hoá từ đó hạn chế hấp thu glucose. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Floersheim G.L. (1987) và Chan A.K. (2007) rằng nồng độ glucose trong

máu giảm trong các trường hợp ngộ độc các loài nấm có amatoxin và trong một số trường hợp glucose trong máu có thể giảm xuống rất thấp.

*** Về ảnh hưởng của dịch chiết nấm độc trắng hình nón lên một số chỉ tiêu huyết học**

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.13 cho thấy: Số lượng hồng cầu, nồng độ huyết sắc tố và tiểu cầu ở thỏ bị ngộ độc nấm độc trắng hình nón giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với thời điểm trước ngộ độc ở ngày thứ 5 và 10 sau ngộ độc. Một trong những đặc điểm của ngộ độc nấm độc có chứa amatoxin là xuất huyết kéo dài ở nhiều cơ quan, hệ thống. Theo Floersheim G.L. (1987) các trường hợp ngộ độc amatoxin mức độ nặng hầu hết có xuất huyết các cơ quan nội tạng. Những trường hợp giảm mạnh các yếu tố đông máu thường có tiên lượng xấu.

*** Về hình ảnh mô bệnh học gan, thận, lách chuột nhắt trắng bị ngộ độc dịch chiết nấm độc trắng hình nón (*Amanita virosa*)**

Trên hình ảnh đại thể gan, thận, lách chuột nhắt trắng bị ngộ độc nấm độc trắng hình nón (ảnh 3.32; 3.37; 3.44) thấy rõ các cơ quan này phù nề, có màu nâu đen, mềm nhũn và kém đàn hồi. Bằng mắt thường ta có thể thấy hình thái của các cơ quan này có những thay đổi khi so sánh với nhóm đối chứng.

Về hình ảnh vi thể:

+ Đối với gan: hình ảnh vi thể gan chuột nhắt trắng bị ngộ độc nấm độc trắng hình nón (ảnh 3.35) thấy rõ vùng hoại tử tế bào gan với các nhân tế bào bị vỡ thành nhiều mảnh, phân nhánh, nhân tan. Xung quanh bề tế bào gan có các đám xuất huyết.

Tế bào gan rất nhạy cảm với amatoxin và có thể coi gan là cơ quan đích chủ yếu đối với loại độc tố này. Khi vào cơ thể độc tố của nấm sẽ thâm nhập vào bên trong tế bào gan và gây rối loạn tổng hợp ARN thông tin dẫn tới rối loạn tổng hợp protein-enzym, kết cục làm chết tế bào. Ngoài ra, amatoxin khởi động các yếu tố kích hoạt sự chết theo chu trình của tế bào (apoptosis) tạo ra các ổ hoại tử, dưới kính hiển vi có thể thấy rõ nhân tế bào bị vỡ ra thành các mảnh, tế bào không còn

nhân (nhân tan). Hậu quả cuối cùng suy gan, rối loạn đông máu, xuất huyết nội tạng. Vì vậy, quan sát tổ chức gan dưới kính hiển sẽ thấy các đám xuất huyết rải rác. Kết quả nghiên cứu mô bệnh học cũng phù hợp với xét nghiệm hóa sinh máu đánh giá chức năng gan (hoạt độ enzym AST, ALT, bilirubin toàn phần tăng rất cao).

+ Kết quả nghiên cứu mô bệnh học với thận cho thấy cầu thận ở chuột bị ngộ độc nấm độc trắng hình nón (ảnh 3.39) bị tổn thương với hình ảnh xung huyết cầu thận, giãn rộng khoang bao Bowman của cầu thận, có chỗ nhân tế bào vón cục, nhân vỡ ra thành các mảnh. Tại vùng tủy thận có các đám xuất huyết ở vùng kẽ và trong lòng các ống thận (ảnh 3.41). Trong lòng các ống thận có các trụ niệu (ảnh 3.42).

Tổn thương thận thường đồng hành với tổn thương gan trong ngộ độc nấm độc có amatoxin. Thận bị tổn thương là do tác động trực tiếp của độc tố lên cầu thận, ống thận do biến chứng của suy gan. Amatoxin là loại độc tố không bị chuyển hóa trong cơ thể nên chất này được thải ra ngoài ở dạng nguyên vẹn. Trên người có 40% lượng amatoxin trong cơ thể được thải qua đường nước tiểu. Theo Puschner B. và CS (2007), trên chó có khoảng 70 – 80% amanitin được đào thải qua nước tiểu, độc tố có trong nước tiểu sẽ làm lớp biểu mô ống thận bị tổn thương bong ra kết hợp với các thành phần khác như hồng cầu, protein tạo thành các trụ niệu. Đây là nguyên nhân gây hoại tử ống thận cấp, tắc ống thận, trong khi đó nếu huyết áp bình thường, thì nước tiểu vẫn được lọc và chảy vào bao Bowman. Tuy nhiên, do các ống thận bị tắc nên nước tiểu bị ứ lại và trên kính hiển vi ta thấy hình ảnh bao Bowman giãn rộng. Hình ảnh mô bệnh học cũng phù hợp về lâm sàng ở những bệnh nhân bị ngộ độc các loài nấm có amatoxin với biểu hiện thiếu niệu hoặc vô niệu.

+ Đối với lách: trên hình ảnh vi thể lách chuột nhắt trắng bình thường (ảnh: 3.45) thấy rõ vùng tủy trắng bất màu xanh thẫm, vùng tủy đỏ có màu xanh đỏ. Lách ở chuột nhắt trắng bị ngộ độc nấm độc trắng hình nón (ảnh: 3.46) thấy rõ ở vùng tủy đỏ có các vùng xung huyết và các đám xuất huyết. Lách bị xung huyết là do hậu quả của tác động của độc tố lên thành các mạch máu trong lách và do hậu quả của suy gan, suy thận.

4.3.2. Độc tính và ảnh hưởng của nấm ô tán trắng phiến xanh (*Chlorophyllum molybdites*) trên động vật thực nghiệm

*** Về độc tính của nấm ô tán trắng phiến xanh**

Nấm ô tán trắng phiến xanh là một trong hai loài nấm thường gây ngộ độc nhất ở tỉnh Cao Bằng. Nấm ô tán trắng phiến xanh mọc ở xã Cách Linh huyện Phục Hòa được chọn để nghiên cứu độc tính.

Kết quả nghiên cứu độc tính của nấm ô tán trắng phiến xanh ở bảng 3.16 cho thấy: LD₅₀ của nấm ô tán trắng phiến xanh đối với chuột nhắt trắng qua đường tiêu hoá là 3,718 g/kg thể trọng đối với nấm khô và 35,253 g/kg thể trọng đối với nấm tươi. Như vậy, nấm ô tán trắng phiến xanh có độc tính thấp.

Theo các tài liệu nước ngoài, nấm ô tán trắng phiến xanh là loài nấm có độc tố gây tác dụng nhanh. Các triệu chứng đầu tiên xuất hiện chỉ sau khi ăn khoảng 30 phút đến 2 giờ với các biểu hiện rối loạn đường tiêu hoá (nôn mửa, đau bụng, ỉa chảy) nhưng thường không gây chết người. Một số tài liệu có trích dẫn hình ảnh lâm sàng các trường hợp ngộ độc nấm ô tán trắng phiến xanh. Tất cả các bệnh nhân ngộ độc loài nấm này đều có nôn mửa, đau bụng, ỉa chảy, mất nước và mất điện giải ở các mức độ khác nhau. Bệnh nhân thường khỏi bệnh sau 2 - 3 ngày sau khi được bù dịch đầy đủ.

4.3.3. Độc tính và ảnh hưởng của nấm xộp gây nôn (*Russula emetica*) trên động vật thực nghiệm

*** Về độc tính của nấm xộp gây nôn**

Nấm xộp gây nôn là loài nấm có mọc ở một số huyện của Cao Bằng. Loài nấm này có đặc điểm bên ngoài: Mũ nấm màu đỏ nên nhân dân ta vẫn coi loài nấm này rất độc, nguy hiểm và gây chết người. Tuy nhiên kết quả nghiên cứu ở bảng 3.21 cho thấy: LD₅₀ qua đường tiêu hoá đối với chuột nhắt trắng của nấm xộp gây nôn ở dạng khô là 4,838 g/kg trọng lượng và đối với dạng nấm tươi là 41,326 g/kg trọng lượng.

Kết quả nghiên cứu trên chứng tỏ rằng nấm xộp gây nôn có độc tính thấp. Các tài liệu ở nước ngoài cũng khẳng định loài nấm này chỉ gây rối loạn tiêu hóa (nôn, buồn nôn, đau bụng, ỉa chảy,...), đặc biệt là

triệu chứng nôn dữ dội sau ăn nấm vì vậy loài này có tên là nấm xóp gây nôn. Hiện nay độc tố của loài nấm này vẫn chưa rõ.

4.3.4. Độc tính và ảnh hưởng của nấm mục (*Coprinus atramentarius*) trên động vật thực nghiệm

*** Về độc tính của nấm mục**

Nấm mục là một loài nấm độc có điều kiện, tức là nấm chỉ có tác dụng gây độc khi ăn nấm kèm theo uống rượu hoặc bệnh nhân uống rượu sau khi ăn nấm. Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.26 cho thấy LD₅₀ của nấm mục (dạng khô) qua đường tiêu hoá đối với chuột nhắt trắng là: 2,976 g /kg trọng lượng khi cho uống kèm với 5 ml rượu nồng độ 40⁰/kg trọng lượng (tương ứng với 0,1 ml rượu nồng độ 40⁰/con). Nấm mục là loài nấm có chứa coprin. Độc tính của loài nấm này được giải thích theo cơ chế sau: coprin trong cơ thể được chuyển hoá thành 1-aminocyclopropanol. Chất này ức chế enzym aldehyd dehydrogenase (ALDH) làm cho acetaldehyd không chuyển hoá thành acetic acid và acetic acid không đi vào chu trình Krebs không phân hủy thành CO₂ và nước, dẫn đến tích tụ acetaldehyd trong cơ thể gây ra ngộ độc. Như vậy, bản chất của ngộ độc coprin là ngộ độc acetaldehyd, một sản phẩm trung gian trong quá trình chuyển hoá rượu. Vì vậy, chỉ những người uống rượu kèm ăn nấm mục có chứa coprin mới bị ngộ độc. Thông thường enzym ALDH bị ức chế trong vòng 5 - 7 ngày sau ăn nấm. Trong thời gian này nếu như bệnh nhân vẫn tiếp tục uống rượu thì triệu chứng ngộ độc sẽ lại xuất hiện.

KẾT LUẬN

1. Thực trạng ngộ độc nấm độc tại tỉnh Cao Bằng giai đoạn từ năm 2003 đến năm 2009 và từ năm 2010 đến tháng 6 năm 2014

+ Giai đoạn chưa có giải pháp can thiệp truyền thông (2003 – 2009), tại Cao Bằng đã xảy ra 29 vụ ngộ độc nấm độc, 81 người mắc và 17 người tử vong (21,0%). Sau triển khai giải pháp can thiệp truyền thông

(từ 2010 đến tháng 6 năm 2014) các vụ ngộ độc nấm đã giảm còn 6 vụ với 12 người ngộ độc và 01 người tử vong (2,4%).

+ Nấm gây ngộ độc nhiều nhất là nấm ô tán trắng phiến xanh: 18 vụ, 39 người mắc, không gây tử vong. Nấm gây tử vong là nấm độc tán trắng (16 người) và nấm độc trắng hình nón (01 người).

2. Đặc điểm hình thái và phân bố của một số loài nấm độc thường gặp tại tỉnh Cao Bằng

+ Nghiên cứu đã phát hiện, mô tả đặc điểm hình thái của 13 loài nấm độc của 11 trong số 12 huyện của tỉnh Cao Bằng, trong đó đã ghiên cứu đã xác định được 4 loài nấm độc thường gây ra ngộ độc tại tỉnh Cao Bằng: Nấm độc tán trắng (*Amanita verna*). Nấm độc trắng hình nón (*Amanita virosa*). Nấm ô tán trắng phiến xanh (*Chlorophyllum molybdites*). Nấm mũ khía nâu xám (*Inocybe fastigiata*).

3. Độc tính cấp, sự thay đổi một số chỉ tiêu hoá sinh, huyết học, tim mạch, mô bệnh học của dịch chiết 4 loài nấm độc thường gặp trên động vật

*** Nấm độc trắng hình nón (*Amanita virosa*):**

+ LD₅₀ chuột nhắt trắng:

- Đường tiêm ổ bụng: 0,322 g/kg (nấm khô), 3,270 g/kg (nấm tươi).
- Đường tiêu hoá: 3,896 g/kg (nấm khô), 28,632 g/kg (nấm tươi).

+ AST, ALT, GGT, bilirubin, urê, creatinin huyết thanh tăng cao trong toàn bộ thời gian theo dõi. Glucose tăng ở ngày thứ 1 và giảm ở ngày thứ 5, 10 sau ngộ độc ($p < 0,001$). Hồng cầu, tiểu cầu, huyết sắc tố giảm ở ngày thứ 5 và 10, số lượng bạch cầu tăng ở ngày thứ 1, thứ 5 sau ngộ độc ($p < 0,05$).

+ Mạch tăng, huyết áp giảm ở 24 giờ sau ngộ độc ($p < 0,01$).

+ Hình ảnh mô bệnh học gan, thận, lách chuột nhắt trắng:

- Đại thể: Gan, thận, lách có màu nâu đen, mềm nhẽo, độ đàn hồi giảm.
- Vi thể: Gan chảy máu, ổ hoại tử tế bào. Thận xung huyết, khoang bao Bowman giãn rộng. Lách xung huyết vùng tủy đỏ.

* **Nấm ô tán trắng phiến xanh** (*Chlorophyllum molybdites*):

+ LD₅₀ chuột nhắt trắng qua đường tiêu hoá: 3,718 g/kg (nấm khô), 35,253 g/kg (nấm tươi).

+ ALT tăng ở ngày thứ 1 sau ngộ độc ($p < 0,001$).

+ Hồng cầu, huyết sắc tố, bạch cầu và tỷ lệ bạch cầu đa nhân trung tính tăng ở ngày thứ 1 ($p < 0,05$).

* **Nấm xộp gây nôn** (*Rusulla emetica*):

+ LD₅₀ chuột nhắt trắng qua đường tiêu hoá: 4,838 g/kg (nấm khô), 41,326 g/kg (nấm tươi).

+ ALT, GGT tăng, glucose giảm ở ngày thứ 1 sau ngộ độc ($p < 0,05$).

+ Hồng cầu, bạch cầu, huyết sắc tố, tỷ lệ bạch cầu đa nhân trung tính tăng ở ngày thứ 1 ($p < 0,05$).

* **Nấm mực** (*Coprinus atramentarius*):

+ LD₅₀ chuột nhắt trắng qua đường tiêu hoá: 2,976 g/kg (nấm khô), 34,248 g/kg (nấm tươi) cho uống kèm 5 ml rượu 40⁰/kg.

+ AST, ALT tăng cao ở ngày thứ 1, thứ 5, riêng ALT tăng đến ngày thứ 10 ở nhóm thử uống dịch chiết nấm mực + rượu ($p < 0,05$).

+ GGT tăng cao, glucose giảm ở ngày thứ 1 sau ngộ độc ($p < 0,05$).

KIẾN NGHỊ

- ✓ Tập huấn cho cán bộ y tế về nhận dạng các loài nấm độc, chẩn đoán, xử trí cấp cứu ngộ độc nấm độc.
- ✓ Xây dựng mẫu tranh tuyên truyền, tờ rơi, băng hình về hình ảnh các loài nấm độc thường gây ngộ độc tại tỉnh Cao Bằng.
- ✓ Tuyên truyền giáo dục trong cộng đồng dân cư, trường học về sự nguy hiểm của ăn nấm độc hái ở rừng. Sử dụng phương tiện truyền thông đại chúng như: Đài phát thanh, truyền hình, báo địa phương, internet, tranh tuyên truyền, tờ rơi.... để tuyên truyền phòng chống ngộ độc nấm độc.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI LUẬN ÁN

1. **Nguyễn Tiến Dũng, Phạm Duệ, Hoàng Công Minh (2011)**, “Nghiên cứu tình hình ngộ độc nấm tại Cao Bằng trong 7 năm (2003 - 2009)”, *Tạp chí Y Dược học Quân sự*, 36(9), tr.115-119.
2. **Nguyễn Tiến Dũng, Phạm Duệ, Hoàng Công Minh (2013)**, “Nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết nấm độc trắng hình nón (*Amanita virosa*) lên một số chỉ tiêu huyết học và tim mạch trên động vật thực nghiệm”, *Tạp chí Y Dược học Quân sự*, 38(2), tr. 15-19.
3. **Nguyễn Tiến Dũng, Phạm Duệ, Hoàng Công Minh (2014)**, “Nghiên cứu đặc điểm nhận dạng và sự phân bố các loài nấm độc tại tỉnh Cao Bằng”, *Tạp chí Y Dược học Quân sự*, 39(1), tr.17-22.
4. **Nguyễn Tiến Dũng, Nguyễn Kim Sơn, Hoàng Công Minh (2014)**, “Nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết nấm mục (*Coprinus atramentarius*) lên một số chỉ tiêu hóa sinh trên thỏ”, *Tạp chí Y học thực hành*, 919(5), tr. 92-95.
5. **Nguyễn Tiến Dũng, Nguyễn Kim Sơn, Hoàng Công Minh (2014)**. “Nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết nấm xộp gây nôn (*Russula emetica*) lên một số chỉ tiêu hóa sinh, huyết học và tim mạch trên động vật”, *Tạp chí Y Dược học Quân sự*, 39(6), tr. 72-77.