

两种金黄色葡萄球菌产肠毒素差异的 Meta 分析

骆璇¹, 郭红卫^{1*}, 李洁²

摘要: [目的] 分析耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)和甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(methicillin sensitive *Staphylococcus aureus*, MSSA)之间产生肠毒素的差异,为评价MRSA、MSSA与金黄色葡萄球菌食物中毒之间的关系提供参考依据。[方法] 采用Meta分析方法对国内外1990~2008年发表的有关MRSA和MSSA产毒株率比较的文献进行汇总、归纳和统计分析。[结果] 共检索到7篇文献,合并总RR值为2.18,95%可信区间为1.58~2.99。MRSA中的产毒株率是MSSA的2.18倍。[结论] MRSA产生肠毒素的概率远大于MSSA。

关键词: 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌; 肠毒素; Meta分析

Comparative Prevalence of the Enterotoxin-producing Isolates in Two Strains of Saphylococcus Aureus Using Meta-analysis LUO Xuan¹, GUO Hong-wei^{1*}, LI Jie² (1. Department of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2. Shanghai Food and Drug Administration, Shanghai 200233, China). *Address correspondence to GUO Hong-wei; E-mail: hwguo@fudan.edu.cn

Abstract: [Objective] To analysis the difference in enterotoxin production between methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) so as to provide a reference to evaluate their association with staphylococcus aureus food poisoning. [Methods] Meta-analysis was used to evaluate the data extracted from published articles domestic and abroad relevant to comparative prevalence of the enterotoxin-producing isolates in MRSA and MSSA during 1992-2008. [Results] A total of 7 articles were retrieved. The overall effect indicator *RR* (95%*CI*) was 2.18 (1.58-2.99). The prevalence of the enterotoxin-producing isolates in MRSA was 2.18 fold greater than in MSSA. [Conclusion] The probability of enterotoxin production in MRSA was far more than in MSSA.

Key Words: *Staphylococcus aureus*; methicillin sensitive *Staphylococcus aureus*; MSSA; enterotoxin; Meta-analysis

肠毒素是金黄色葡萄球菌引起食物中毒的主要致病因子。金黄色葡萄球菌食物中毒在世界范围内普遍存在,在每年各国的细菌性食物中毒统计数据中均排前位。据报告,2006年美国共发现29例葡萄球菌食物中毒事件,在细菌性食物中毒中居第三位^[1]。在韩国由金黄色葡萄球菌引起的食物中毒仅次于沙门氏菌^[2]。近年来屡有严重的金黄色葡萄球菌食物中毒事件出现,其中最著名的为2000年日本雪印牛奶事件^[3]。在食品安全领域,金黄色葡萄球菌食物中毒已成为一个世界性的卫生问题。

同时,金黄色葡萄球菌还是一种引起感染性疾病的重要致病菌。长久以来,临床上常采用抗生素治疗由金黄色葡萄球菌引起的各种感染。但是由于过分滥用,出现了越来越多对抗生素耐药的金黄色葡萄球菌菌株。甲氧西林的应用始于1960年,

但在之后的两年内即发现了耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌菌株(MRSA)。在随后的40余年里,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌已逐渐广泛分布于全世界各地。这种菌株对多种抗生素具有耐药性,易在医院病人中造成严重的感染^[4]。

Meta分析,是近些年来在医学健康领域中广泛采用的一种新的研究分析方法,即运用统计学方法概括总结多个针对同一科学问题所做的独立研究结果。这一方法在各种定性和定量研究中皆可采用,能够有效限制偏倚和减少随机误差,因而比单纯包括多个研究的综述对效果的评估更准确。本项目拟通过收集国内外现有的相关文献资料,采用Meta分析的方法对MRSA和甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)产肠毒素株率进行综合分析,以判断两者间是否存在差异。

1 材料与方法

1.1 文献检索和收集方法

以“MRSA”、“MSSA”、“产毒”、“肠毒素”作为检索限定词,采用主题词与全文相结合的方式在CNKI中国学术期刊网全文数据库、维普VIP中文科技期刊全文数据库、中国生物医学文献数据库(CBM)等中文数据库和Web of Knowledge(一个包括Web of Science、MEDLINE、Current Contents Connect、ISI

[基金项目] 上海市科委2007年度重大科技攻关项目(编号:07dz19508-6)

[作者简介] 骆璇(1984-),男,硕士生;研究方向:食品安全;E-mail: 072102108@fudan.edu.cn

[*通信作者] 郭红卫教授;E-mail: hwguo@shmu.edu.cn

[作者单位] 1. 复旦大学公共卫生学院营养与食品卫生教研室,上海200032; 2. 上海市食品药品监督管理局,上海200233

Proceedings、Derwent Innovation Index、BIOSIS Previews 等多个数据库的学术信息资源整合体系)、Pubmed 等英文数据库中检索于 1990 年 1 月至 2008 年 12 月间发表的关于 MRSA 和 MSSA 产毒株率比较的所有国内外中英文文献。

1.2 文献纳入和剔除标准

最终纳入的文献需符合以下标准: ①所有的金黄色葡萄球菌菌株均需分离自同一批标本; ②菌株肠毒素测定包括了国内外较常见的肠毒素 A、B、C、D 4 种血清型; ③分别含有 MRSA 和 MSSA 两种金黄色葡萄球菌中能产生各血清型肠毒素的具体菌株数。剔除标准包括重复发表的论文; 综述、评论或讲座; 研究中检测的肠毒素血清型太少或没有具体的产毒株数数据。

1.3 数据收集和统计分析

整理纳入的原始文献, 按照要求摘录出需要的数据, 建立数据库。对数据采用传统的 Q 检验法进行一致性检验, 计算统计量 Q 。 Q 近似服从自由度为 $k-1$ 的卡方分布, k 为纳入研究数。若 $Q > k-1$, 则 $P < 0.05$, 可认为研究间存在异质性。若存在异质性则选用随机效应模型计算效应合并值的点估计和区间估计, 反之则采用固定效应模型^[5]。具体统计分析采用 Review Manager 5 软件进行。本项目要进行 Meta 分析的是 MRSA 和 MSSA 之间产肠毒素株率的比较, 属于计数资料范畴, 在实际软件应用中以相对危险度 (relative risk, RR) 作为测量效应指标。

表 2 所有纳入的研结果究数据

Table 2 Data of all included articles

研究者 Author	MRSA			MSSA		
	总株数 Total isolates	产毒株数 Enterotoxin-producing isolates	产毒株率 (%) Ratio of enterotoxin-producing isolates	总株数 Total isolates	产毒株数 Enterotoxin-producing isolates	产毒株率 (%) Ratio of enterotoxin-producing isolates
SCHMITZ 等	181	72	39.8	100	36	36
ENDO 等	17	14	82.4	40	16	40
KIM 等	172	123	71.5	80	39	48.8
TAE 等	58	48	82.8	231	99	42.9
李红玉等	134	126	94.0	126	38	30.2
陈欣等	60	60	100	40	8	20
龙军等	67	63	94.0	63	19	30.2

2.2 Meta 分析

2.2.1 一致性检验 对各研究结果进行一致性检验。分析结果显示 $P < 0.00001$ 。通过对统计量 Q 的自由度校正可得一致性检验的另一常用统计量 I^2 , $I^2 > 50\%$ 即提示存在异质性^[13]。分析结果显示 $I^2 = 87\% > 50\%$ 。两个统计量数据都提示各研究之间存在异质性, 应采用随机效应模型计算效应合并值。

2.2.2 MRSA 和 MSSA 之间产肠毒素株率的比较 所有研究中共检出 1369 株金黄色葡萄球菌。其中, MRSA 有 689 株, 产生肠毒素的有 506 株, 占 73.4%; MSSA 有 680 株, 产生肠毒素的有 255 株, 占 37.5%。纳入各研究的权重、相关危险度及其 95% 可信区间如表 3 所示。采用随机效应模型进行合并分析后显示总 RR 值为 2.18, 95% 可信区间为 1.58~2.99。结果表明 MRSA 产毒株率是 MSSA 的 2.18 倍, MRSA 菌株产生肠毒素的概率远大于 MSSA。

2 结果

2.1 文献检索

最终检索到的相关中英文文献共计 120 余篇, 阅读和筛选后有 7 篇文献符合标准进入到 Meta 分析^[6-12]。其中, 中文文献 3 篇, 英文文献 4 篇。所有文献中的金黄色葡萄球菌菌株均来自于各种临床标本, 如血、尿、脓液、耳渗出液等。文献的有关情况见表 1。

表 1 纳入文献基本资料

Table 1 Basic informations of all included articles

发表年份 Published year	作者 Authors	国家 Country	检测肠毒素血清型 Serotype of Enterotoxin detected
1995	TAE 等 ^[6]	日本 (Japan)	A, B, C, D
1997	SCHMITZ 等 ^[7]	德国 (Germany)	A, B, C, D
2003	ENDO 等 ^[8]	日本 (Japan)	A, B, C, D, E
2006	KIM 等 ^[9]	韩国 (Korea)	A, B, C, D, E
1997	陈欣等 ^[10]	中国 (China)	A, B, C, D
2004	龙军等 ^[11]	中国 (China)	A, B, C, D, E
2006	李红玉等 ^[12]	中国 (China)	A, B, C, D, E

在各篇文献中, 肠毒素检测都包含了常见的 A、B、C、D 4 型, 其中的 4 篇还额外检测了 E 型肠毒素。摘录出各研究结果中能产生 A、B、C、D 型肠毒素的金黄色葡萄球菌菌株数建立最终的分析数据库。相关数据信息见表 2。

表 3 MRSA 和 MSSA 之间产肠毒素株率比较的 Meta 分析结果

Table 3 Results of comparative prevalence of the enterotoxin-producing isolates in MRSA and MSSA with Meta-analysis

研究者 Author	相对危险度 RR	相对危险度的 95% 可信区间 RR 's 95%CI
SCHMITZ 等	1.10	0.80~1.52
ENDO 等	2.06	1.33~3.19
KIM 等	1.47	1.15~1.87
TAE 等	1.93	1.60~2.33
李红玉等	3.12	2.38~4.08
陈欣等	4.78	2.63~8.71
龙军等	3.12	2.13~4.56

森林图 (forest plots) 是 Meta 分析结果的一种常用表达形式。横线表示效应值的可信区间, 中间的方块是点估计值。最下方的菱形代表多个研究的合并结果。垂直线将图分为左右两

半,可用于判断结果差异有无统计学意义^[14]。本次研究的森林图如图 1 所示。几乎所有的横线都较短,且处于垂直线的右侧,最下方的菱形也完全处于垂直线的右侧。这说明 MRSA 和

MSSA 两种金黄色葡萄球菌菌株之间产毒株率的差异是有统计学意义的。

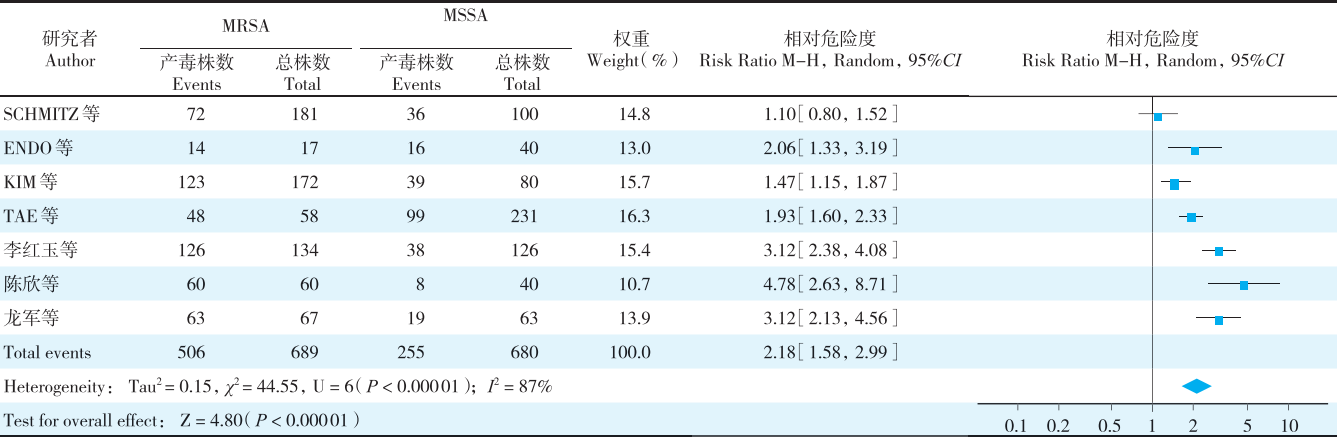


图 1 Meta 分析结果森林图

Figure 1 Forest plot of Meta-analysis

2.2.3 发表性偏倚 在 Meta 分析中,发表性偏倚对结果的真实性和可靠性有很大的影响,特别是当入选分析的研究主要是以小样本研究为主时,发表性偏倚常使分析的效应合并值被高估,甚至使本来没有统计学意义的分析结果变为有统计学意义的结果^[15]。漏斗图(funnel plots)是 Meta 分析中最常用的识别发表性偏倚的方法。原则上要求 5 个点以上才能绘制漏斗图。在没有发表性偏倚的情况下做出的图象呈现对称的倒漏斗状。当存在发表性偏倚时,作出的漏斗图出现不对称的偏态分布^[16]。在本次分析中,以 logRR 的标准误为纵坐标,RR 为横坐标所作的漏斗图如图 2 所示。图中的 7 个点较均匀分布于合并效应量 $RR = 2.18$ 的两侧,整个倒漏斗图基本对称,提示发表性偏倚不大。

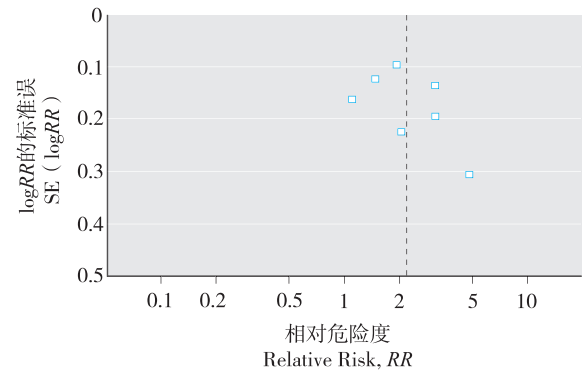


图 2 Meta 分析漏斗图

Figure 2 Funnel plot of Meta-analysis

3 讨论

Meta 分析又称为荟萃分析、汇总后分析、元分析等,其基本思想是将多个独立研究的统计量采用固定效应模型或随机效应模型进行加权合并,综合估计出平均的统计效应值,从而对研究结果进行更加客观、真实的评价。进行 Meta 分析的主要包括提高统计检验效能、评价结果一致性、改进对作用效应的估计、解决单个研究未能明确的新问题等^[17]。虽然近些年

来国内外已有一些文献相继报道了临床样本中抽检出的 MRSA 和 MSSA 的产毒情况,但是迄今尚未出现采用 Meta 分析方法对两者间产毒株率的差别进行综合评价的相关研究。

金黄色葡萄球菌广泛分布于自然环境中。其污染食物后,在一定条件下产生肠毒素。当人体通过食用这些食物而摄入一定剂量的肠毒素之后就会发生食物中毒。金黄色葡萄球菌肠毒素(Staphylococcal enterotoxins, SEs)迄今已发现有 A、B、C、D、E、H、G、I 等十几种血清型,是一组血清学上互不相同的热稳定肠毒素^[18-19]。

MRSA 是一种重要的全球性院内感染常见病原菌。但是现在这一菌株于正常人、动物、各种食物及其他外部环境中的分布已经越来越普遍。NORMANNO 等在 160 株动物性食物中分离出的金黄色葡萄球菌中检测到 6 株 MRSA^[20]。de NEELING 等对 540 头屠宰场中的荷兰猪进行检测发现其中有 209 头猪的鼻孔中携带有 MRSA^[21]。

和正常菌株一样,MRSA 也能产生各种血清型肠毒素。人体如摄入被 MRSA 污染的食物也有可能发生食物中毒。在各血清型肠毒素中,A、B、C、D 4 型发现最早,由它们引起的金黄色葡萄球菌食物中毒最为多见^[22]。故本项目中只分析产生这 4 种肠毒素的菌株数。在纳入的 7 项研究结果数据中,只有 SCHMITZ 等的研究结果显示 MRSA 和 MSSA 之间的产毒株率相近。剩余 6 项的 MRSA 产毒株率范围为 70%~100%,而 MSSA 的产毒株率范围为 20%~48.8%,且各单项研究的效应指标 RR 均大于 1,95% 可信区间均不包括 1。6 项研究中有 4 项 RR 值大于 2,最大的 RR 值为 4.78。这表明在大多数的研究中,MRSA 产生肠毒素的概率都高于 MSSA。Meta 分析中合并计算得到的总效应值和森林图、漏斗图的结果也都证实了 MRSA 和 MSSA 两者间产毒株率的这一差异是具有统计学意义的。

本次 Meta 分析的文献为近 20 年来国内外能收集到的公开发表的文献。由于研究对于数据的完整性要求较高,而很多近年来发表的文献中或报道的结果不详细,仅研究 MRSA 产毒株而没有 MSSA 产毒株数据,或检测的肠毒素种类过少,给资料

收集和利用造成了一定的困难,故最终能够被纳入的文献数量较少,仅有 7 篇。同时目前应用于金黄色葡萄球菌肠毒素检测的方法有很多,如酶联免疫吸附法(ELISA)、聚合酶链反应或多聚酶链反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)、乳胶凝集试验(RPLA)等^[23],纳入分析的文献不是都采用同一种方法进行检测。本研究中的统计分析过程依靠 Review Manager 5 软件进行。Review Manager 是一款目前应用较多的 Meta 分析专业软件。它不仅可以帮助完成 Meta 分析复杂的计算过程,将森林图的分析结果以图表形式展示,还可以帮助学习 Meta 分析的架构。但由于它只提供定性的漏斗图绘制功能,在识别发表性偏倚的时候主观性较强^[24]。研究中所得漏斗图各点分布较均匀,表明发表性偏倚不大,但是由于纳入的研究文献量较少,这一判断仍然是不够充足的。这些对于最终结果的可信度可能会造成一定影响。今后随着新的相关文献报道的不断出现,可将其整合入已有数据中进行再分析,还可采用 Begg 秩相关法、Egger 回归法等定量方法识别发表性偏倚,进一步完善相应的 Meta 分析工作。

总之,通过本次 Meta 分析初步明确了 MRSA 和 MSSA 之间产生肠毒素的概率存在着较大差异。MRSA 的产毒株率要高于正常的金黄色葡萄球菌。由于金黄色葡萄球菌食物中毒与摄入的肠毒素的剂量紧密相关,故可认为 MRSA 不仅是重要的感染致病菌,也是引起金黄色葡萄球菌食物中毒的一个非常重要的危险因素。若要开展金黄色葡萄球菌食物中毒的风险评估,应当充分考虑 MRSA 的影响,并在之后的风险管理中选取相对应的措施,以进一步帮助降低居民发生金黄色葡萄球菌食物中毒的风险。

参考文献:

- [1] U.S. Centers for Disease Control and Prevention. Surveillance for Foodborne disease outbreaks—United States, 2006 [EB/OL]. [2009-08-01]. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5822a1.htm>
- [2] BAHK G J, HONG C H, OH D H, et al. Modeling the level of contamination of *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat kimbab in Korea [J]. J Food Pro, 2006, 69(6): 1340-1346.
- [3] 王大军. 日本食品安全神话的破灭—雪印牛奶骚动始末 [J]. 中国经贸导刊, 2000(14): 41.
- [4] ZETOLA N, FRANCIS J S, NUERMBERGER E L, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging threat [J]. Lancet Infect Dis, 2005, 5(5): 275-286.
- [5] 吕嘉春, 施侣元. Meta-analysis 及其在流行病学中的应用 [J]. 中华流行病学杂志, 1994, 15(6): 363-367.
- [6] TAE T, KATSUKO O, AIKICHI I, et al. A Retrospective Study of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* clinical strains in Tokyo university hospital [J]. J Infect Chemother, 1995, 1: 40-49.
- [7] SCHMITZ F J, MACKENZIE C R, GEISEL R, et al. Enterotoxin and toxic shock syndrome toxin-1 production of methicillin resistant and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* strains [J]. Eur J Epidemiol, 1997, 13(6): 699-708.
- [8] ENDO H, HIGURASHI Y, OKUZUMI K, et al. Changes in drug susceptibility and toxin genes in *Staphylococcus aureus* isolated from blood cultures at a university hospital [J]. J Infect Chemother, 2004, 10(1): 8-10.
- [9] KIM J S, SONG W, KIM H S, et al. Association between the methicillin resistance of clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, their staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) subtype classification, and their toxin gene profiles [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2006, 56(3): 289-295.
- [10] 陈欣, 张雅莲, 孙永华, 等. 我院耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的耐药性及肠毒素分析 [J]. 中华整形烧伤外科杂志, 1997, 13(5): 377-379.
- [11] 龙军, 陈清, 俞守义. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌及肠毒素的检测 [J]. 中国公共卫生, 2004, 20(5): 519-520.
- [12] 李红玉, 龙军, 徐霞. 金黄色葡萄球菌肠毒素的检测和耐药性分析 [J]. 热带医学杂志, 2006, 6(7): 785-787.
- [13] 魏丽娟, 董惠娟. Meta 分析中异质性的识别与处理 [J]. 第二军医大学学报, 2006, 27(4): 449-450.
- [14] 钟文昭, 吴一龙, 谷力加. Review Manager (RevMan)—临床医生通向 Meta 分析的桥梁 [J]. 循证医学, 2003, 3(4): 234-246.
- [15] 周旭毓, 方积乾. Meta 分析的常见偏倚 [J]. 循证医学, 2002, 2(4): 216-220.
- [16] 康德英, 洪旗, 刘关键, 等. Meta 分析中发表性偏倚的识别与处理 [J]. 中国循证医学杂志, 2003, 3(1): 54-94.
- [17] 富振英. Meta-analysis 方法介绍 [J]. 卫生研究, 1995, 24(6): 380-382.
- [18] 柳旭伟, 葛文霞. 金黄色葡萄球菌肠毒素 [J]. 微生物学杂志, 2008, 28(5): 86-90.
- [19] OMOE K, IMANISHI K, HU D L, et al. Biological properties of *Staphylococcal enterotoxin-like toxin type R* [J]. Infect Immun, 2004, 72(6): 3664-3667.
- [20] NORMANNO G, CORRENTE M, SALANDRA G, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in foods of animal origin product in Italy [J]. Int J Food Microbiol, 2007, 117(2): 219-222.
- [21] DE NEELING A J, VAN DEN BROEK M J, SPALBURG E C, et al. High prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in pigs [J]. Vet Microbiol, 2007, 122(3/4): 366-372.
- [22] 吴坤. 营养与食品卫生学 [M]. 5 版, 北京: 人民卫生出版社, 2006: 368.
- [23] 李毅. 金黄色葡萄球菌及其肠毒素研究进展 [J]. 中国卫生检验杂志, 2004, 14(4): 392-395.
- [24] 王丹, 牟振云, 翟俊霞, 等. Stata 软件在 Meta-分析发表性偏倚识别中的探讨 [J]. 现代预防医学, 2008, 35(15): 2819-2822.

(收稿日期: 2009-08-18)

(编辑: 丁瑾瑜; 校对: 徐新春)