**《疾病监测》审稿意见与作者答复**

题目：2012－2014年乌鲁木齐市＜5岁急性腹泻儿童患者诺如病毒感染及基因型研究

作者：沙比热木•托合塔木，肖克来提•努尔，周海健，靳淼，孔翔羽，周永康，李慧莹，段招军，马合木提

———————————————**审稿专家意见与作者答复**——————————————

**初审专家意见及作者修改说明：**

专家1：该研究收集2012—2014年乌鲁木齐市儿童医院因急性腹泻入院的5岁以下儿童的粪便标本，应用实时荧光定量PCR筛查诺如病毒阳性标本，应用反转录聚合酶链反应方法扩增衣壳蛋白区和聚合酶区并测序，应用在线基因分型工具了解乌鲁木齐市5岁以下儿童中诺如病毒基因型/亚型的分布，从而进行流行病学分析。发现新疆乌鲁木齐市急性腹泻儿童中诺如病毒具有遗传多样性，其中GII.P12/ GII.3和GII.P4/ GII.4为2012—2014年新疆乌鲁木齐市的流行毒株。该文立题明确，方法得当，分析可靠，讨论充分。

1．英文摘要和英文图注建议重新撰写。图1的英文标注中，应该为<5岁。

回复：感谢专家的意见，我们已将英文摘要和英文图注重新撰写，图1的英文标注中，改为<5岁。

专家2：1.采样医院是在乌鲁木齐，但新疆地域辽阔，是多民族聚集区。建议提供本文住院儿童的三件分布资料，并分析不同常住地和不同民族的流行特征是否有差异。图2的结果中“≥0.5岁、0.5-1岁、1-2岁、2-3岁、3-4岁、4-5岁年龄组的阳性率分别为14.23% （35/246）、17.50% （63/360）、18.42%（42/228）、32.00%（8/25）、14.29% （2/14）、0% （0/22）（图2）。不同年龄组的阳性率差异有统计学意义（χ2=13.367, *P*=0.020）”因各年龄组样本数差异大，尤其2-3岁、3-4岁、4-5岁的3个年龄组的样本数过过少。请谨慎解释结果。

回复：我们同意专家的意见，因此在年龄组检出率方面只展示结果，并没有展开讨论。

2.表3、表4，请按年份分别统计，以便看出不同年份的主要流行株及变化的过程。

回复：为了使文章更清晰，根据专家的意见，我们重新调整了表格。

3.图表的内容与文字内容重复太多。文字不够简练，很多病句。请作者仔细修改。

根据专家的建议，通篇进行修改。

专家3：本文对新疆乌鲁木齐急性腹泻儿童感染诺如病毒的流行情况及毒株的遗传多态性进行了分析，研究结果和结论具有一定参考价值，对于新疆乃至我国急性感染性腹泻的防控具有重要指导意义。

1.前言中，最后一段应结合新疆地理位置的特殊性，进一步引出研究目的。

回复：根据专家意见，已做相应修改。

2.“≧0.5岁、0.5-1岁、1-2岁、2-3岁、3-4岁、4-5岁年龄组的阳性率分别为14.23% （35/246）、17.50% （63/360）、18.42%（42/228）、32.00%（8/25）、14.29% （2/14）、0% （0/22）”，≧应为≤。

回复：已做相应修改。

3.摘要和结果中均提到了衣壳蛋白和聚合酶序列的基因型分析，但是在方法部分并未描述聚合酶基因检测和序列分析。此外，150份阳性样本中，144份检出聚合酶基因，而仅94份检出衣壳蛋白基因，请讨论说明可能的原因。

回复：根据专家的意见，我们已经对该处进行重新修改（聚合酶和衣壳区检测方法均已列出）。我们已在讨论中增加了为何衣壳区只分型94份。

4.“GII.3型时常引起儿童散发腹泻病例，在2010年之前在不同地区为优势菌型，而2010年之后大部分GII.3型毒株为重组株。”这句话应提到“1995年以来，全球范围内的胃肠炎流行均是由单一的基因型（GII.4）引起的，其中六次全球流行是由新出现的GII.4变种引起的”前面去。

回复：GII.4型诺如病毒是最广泛流行的毒株，所以在前言先介绍GII.4毒株的重要性。GII.4大多因为点突变导致出现新的变异株。重组是诺如病毒流行另一个重要原因。GII.3毒株在儿童中检出率仅次于GII.4毒株，从2010年后GII.3毒株都是以重组形成的毒株流行。因此这是复合逻辑的。

5.图3和图4基因型年代分布图中，把“其他型别”应该展示出来。

回复：已按要求更改。

6.讨论部分，“在本研究中，我没针对新疆乌鲁木齐市5岁以下儿童腹泻标本进行检测，诺如病

**复审专家意见及作者修改说明：**

建议改为“2012-2014年新疆乌鲁木齐市<5岁急性腹泻儿童患者诺如病毒感染及基因型研究”。因为住院的大部分为中重度腹泻。病原谱和阳性率与轻症患者不一样、疾病负担不同。

回复：已按要求更改。

———————————————**定稿会意见与作者答复**———————————————

**定稿会意见**：

主要研究了新疆乌鲁木齐地区2012-2014年<5岁急性腹泻儿童患者诺如病毒分子流行病学特征。今年我国诺如病毒暴发疫情较多，防控压力大，各地区诺如病毒份分子流行病学特征，尤其是进化和变异、新毒株的出现，都为全国的防控提供了参考依据，具有重要的公共卫生意义。但本文还需要按照审稿人意见修改后，送审斟酌是否发表。相关修改意见见下和文中批注。

1.参考文献，请按顺序插入

回复：按专家要求，参考文献已做相应修改

2.请准确引用原文：“GII.3型毒株在引起儿童散发腹泻病例中仅次于GII.4型，2000年后，GII.3毒株均以重组株方式流行”。

回复：以下是此句的出处，Denali Boon, Jackie E. Mahar, Eugenio J. Abente, Carl D. Kirkwood, Robert H. Purcell, Albert Z. Kapikian, Kim Y. Green, and Karin Bok. Comparative Evolution of GII.3 and GII.4 Norovirus over a 31-Year Period. J Virol. 2011 Sep; 85(17): 8656–8666.

3.Real-time 检测方法应当给与明确的实验方法。应当明确基因分型方法？系统进化树还是其他方法？

回复：按专家意见，已做相应修改，见材料与方法。

4. RT-PCR方法为何退火时间那么长？

回复：方法来自于美国辛辛那提儿童医院生物医学中心感染科Jiang Xi实验室（从事诺如病毒和轮状病毒实验室），见以下文献。

5.全文未见进化树？应当给出建立进化树的参数和使用的序列的GenBank 信息；序列上传GenBank号？

回复：所用参考毒株序列来自美国疾控中心CaliciNet实验室，参考株和GenBank号见以下文献，建树参数见材料和方法。 已在文章中进行修改。J Vinjé. Advances in laboratory methods for detection and typing of norovirus. J clin microbiol. 2015 53 (2) :373-381.

6.计算率，应当给出分子和分母。数据应当统一小数位数。

回复：根据专家意见，已做相应修改。

7.前后数据不一致

回复：经核实，是137份聚合酶序列。

8请按审稿人2的要求分析流行病学特征。（采样医院是在乌鲁木齐，但新疆地域辽阔，是多民族聚集区。建议提供本文住院儿童的三件分布资料，并分析不同常住地和不同民族的流行特征是否有差异。）

回复：本文住院儿童三件分布按专家意见做相应的修改，本研究中按照关于印发《全国病毒性腹泻监测方案（2007年修订版）》方案的要求执行的；乌鲁木齐市儿童医院是本项目的哨点医院也是方案要求选择的，个案表的变量里第一：有家庭住址……城市和农村，所以地区分布也只是按城市/农村做过初步的统计。第二：在收集的变量里边没有涉及到民族，所以无法安不同民族来划分，这是我们今后对新疆补充研究的重要问题

9.图3、图4与文字表述重复。

回复：按专家意见，已经做相应修改。

10.大修后重写摘要

回复：按专家意见，已经做相应修改。

11. GII.17流行特征、进化特征有何特点？

回复：根据专家意见，已做相应修改，将如下文字放在讨论中。

自2014年10月在我国、日本等亚洲国家引起暴发突然增加，而其他国家仍以GII.4\_Sydney 2012变异株流行为主，GII.17在此之前一直检出频率十分低，通过抗原位点和受体结合区周外位点的变异，扩大宿主受体结合模式以及抗原性，从而在人群中流行开来。