**《疾病监测》审稿意见与作者答复（020-0052）**

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

**初审专家意见及作者修改说明：**

**问题1：稿件报道的是2年前（2013-2017年）的数据，有些陈旧了。**

回复：首先感谢您的宝贵意见。文中体现的年份时间依据于肺结核患者就诊登记的时间进行确定。本研究是以耒阳市收集的全部耐药监测菌株为研究对象，在国家结核病参比实验室开展的针对其耐药特征的连续动态监测。而菌株在当地结核防治机构的分离培养、鉴定等工作均需要一定时间，加上结核分枝杆菌代时长（18-24h）、生长慢，因此对国家结核病参比实验室来说，当年全部菌株及流行病学信息的收集工作存在一定的滞后性。2018年的菌株尚未收集全，已收集到的菌株虽然也完成了相关的MIC药敏试验，但鉴于菌株不全，代表性差，未纳入本次数据分析。

**问题2：创新性中的“（2）本研究采用微孔板法批量化测定菌株对多种药的最小抑菌浓度，在获得耐药结果的同时，可以知晓耐药程度的高低。”。微孔板法因为容易标化、操作简单，可以获得MIC值的优势，在我国的使用已经很普遍了，虽然基层实验室可能绝对浓度法使用的还比较大。这个不足以作为本文的创新点。**

回复：首先感谢您的宝贵意见，我们认同您的观点，此处存在表述存在遗漏。正如您所说，基于微孔板法的药敏试验目前很普遍，但目前多数实验室针对结核分枝杆菌的药敏还是采用固体比例法，而采用MIC方法的实验室多使用的是刃天青微孔板显色法，药液配制、稀释和菌液的接种均由人工手动进行，容易出现误差，而本研究采用的是经FDA认证，由美国Thermo公司生产的商品化的药敏板，多项研究已证实其可靠性重复性高，药物以冻干粉的形式固着于微孔板，且菌液的稀释和接种均采用自动化仪器，很大程度上减小了人为操作不稳定等因素带来的误差。

**问题3：前言中“关于结核病耐药特征相关研究多有报道，但多数研究限于对一线抗结核药研究或横断面研究，且药敏试验多基于绝对浓度法、比例法等”。有很多二线药物及我国结核流行状况、耐药谱的多年分析数据；在药敏实验中微孔板的药敏数据也很多。**

回复：尊敬的专家，感谢您的宝贵意见。我们认同您的看法，并将文中内容进行删除修正，详见文章正文49-55行，再次感谢您的建议。

**问题4：材料和方法中菌株来源叙述不清。文中仅叙述菌株为“冻存于国家结核病参比实验室菌株库的湖南省耒阳市耐药监测菌株（2013-2017年）”，无当年菌株收集依据，分离鉴定标准，因此不清楚105（18.49%）株来自复治结核病患者，463（81.51%）株来自初治结核病患者是自然病人构成，还是选择入库后的结果。尤其是经质谱鉴定后11株是NTM菌株，说明之前的鉴定结果不正确。而且作为创新性一列出的质谱法，文中没有与其他鉴定方法的比较结果，也没有进一步的确证结果，很难说明质谱的结果就一定正确。讨论中也无任何涉及。**

回复：尊敬的专家，首先感谢您的宝贵意见，本文材料方法中菌株来源确实存在表述不清的问题。本研究纳入分析的菌株的来源是：以2013年01月-2017年12月到湖南省耒阳市结核病定点诊疗机构就诊的所有可疑肺结核患者中痰涂片阳性患者为研究对象，对涂阳痰标本进行分离培养（其中，2013年对全部肺结核疑似患者进行痰标本分离培养，不仅仅针对涂阳患者），获得阳性培养物送至湖南省结核病参比室采用PNB和TCH生化试验法进行菌型鉴定及药敏检测，并收集患者信息，填写《全国结核病耐药性监测患者信息表》。由于该监测点将耒阳市的肺结核涂阳患者分离培养的菌株全部纳入，因此本研究的结果可以代表该地区且初复治的比例为自然患者的人口构成。修改见文中65-74行。湖南省结核病参比室将涂片阳性患者培养阳性的菌株均送至国家结核病参比实验室，并非仅包括MTB，因此可能存在少量NTM。另外，多项研究表明PNB菌种鉴定的方法本身存在一定的局限性，灵敏度和特异度均较低，本研究采用质谱法进行鉴定，其准确率（尤其对结核分枝杆菌的鉴定）经多项研究证实准确可靠，该部分内容补充在讨论里，详见修改稿233-236行。谢谢您！

**问题5：结果中“INH的任一耐药率最高为13.38%（76/568）”“MXF的任一耐药率最高为6.16%（35/568）”何意？有“菌株的任一耐药率”的说法，即菌株对任何一种抗生素耐药即即为耐药株。这里的药物任一耐药率指的是什么？与药物的耐药率有什么区别？**

回复：首先感谢您的宝贵意见，本文表述确实存在错误，任一耐药率应该修正为任意耐药率，任意耐药指必须对指定的抗结核药药物耐药，而不考虑是否对其他药物耐药。经修正后本文的任意耐药率和耐药率的概念一致。见修改稿129-140行，谢谢您！

**问题6：结果中“耐药相关性分析结果显示，氟喹诺酮类药物（MXF和OFL）和二线注射类药物（AMI和KAN）内部的交叉耐药现象十分严重”。意义不大，相关系数高的药物都是同类药物，耐药机制是一样的，相关是必然。**

回复：尊敬的专家，感谢您的宝贵意见，的确如您所说，同类药物的耐药机制几乎完全相同，相关系数高的实质意义可能不大，但侧面验证了试验结果的可靠性。本研究耐药相关性分析结果中有实质性意义的是在一线抗结核药物之间交叉耐药现象较为严重，耐药相关程度为中度相关，体现了联合用药方案对耐药菌株存在一定的筛选作用，并对今后抗结核药物组合方案的制定提供一定参考。

**问题7：讨论里“湖南省耒阳市耐多药率低于2007年全国基线调查的平均（初治：4.75% vs 5.7%，复治：13.33 vs 25.6%）[17]”全国有5次调查，第3-5次分别为1990、2000和2010年，为什么作者选择和2007年的数据比较？所标参考文献17的数据是2010年的。“湖南省耒阳市耐多药率低于2007年全国基线调查的平均（初治：4.75% vs 5.7%，复治：13.33 vs 25.6%），但MDR/RR-TB负担仍高于全球的平均水平（初治：5.62% vs 3.4%，复治：20.95% vs 18%）”这两组数据均无统计学检验。**

回复：尊敬的专家，首先感谢您的宝贵意见，现针对您的建议答复和修改如下：（1）本研究基于于国家结核病耐药监测，与2007年耐药基线调查的监测点的分布一致，两者之间的可比性优于与全国结核病流行病学抽样调查的可比性。（2）所标注的参考文献17，虽然文章发表于2012年新英格兰杂志，但数据是2007年基线调查的数据。（3）此外，2007年耐药调查所有菌株经过了国家结核病参比实验室复核，结果较为可靠.（4）在此处增加统计学检验，数据符合单组设计定性资料特点，将参考文献中的率视为总体率，以本研究中的数据得到样本率，将两者进行差异性比较，得出Z值和P值，根据统计学检验后得到的结果，将内容表述进行修正，具体详见文中204-212行,谢谢您！

**问题8：结论“在耐多药中占比61.11%，提示耐药的传播应该引起我们的重视，该结果也在一定程度上验证了杨崇广等的观点”不合适。选取的菌株构成中“105株（18.49%）分离自复治结核病患者，463株（81.51%）分离自初治结核病患者”，本身就是初治患者多，作者在多耐药分析时未考虑构成的影响，做率的标化分析，不能得出这样的结论。**

回复：尊敬的专家，感谢您的宝贵意见，该结论的确不准确。如要判定耐多药患者的来源主要来自传播还是治疗不规范，应该收集全部患者的菌株进行全基因组测序，构建系统发育树看成簇率的高低，方能下科学性的结论。事实上，即使是患MDR-TB的为复治患者，也存在外源性再感染MDR-TB的可能性，不能排除传播来源的可能性。鉴于此，我们摒弃上述说法，修正表述如下：尽管本研究结果显示初治结核病患者中耐多药率显著低于复治患者，但由于初治患者人口众多，耐多药患者中来源于初治患者的人数依然多余复治患者，占比高达61.11%，进一步提示原发性耐多药结核病应引起我们的重视。详见文中212-215行。再次感