

《疾病监测》审稿意见与作者答复

题目：非 O157 产志贺毒素大肠埃希菌分离株血清型鉴定及主要毒力基因分析

作者：范如岳，白向宁，傅珊珊，许艳梅，熊衍文

——审稿专家意见与答复——

初审专家意见及作者修改说明：

文章侧重于对非 O157 STEC 菌株的血清分型及毒力基因鉴定，如何将结果更好地应用于非 O157 STEC 菌株所导致的疾病防控，还需更好地与流行病学调查信息相结合。建议补充下述信息：

1. 菌株收集时是否结合了 O157 血清型的鉴定？在所采集的不同类型的标本中 O157 与非 O157 各自占了多大的比重？特别对于腹泻患者而言，此数据可以更好地反映由非 O157 STEC 菌株所带来的疾病负担；

非常同意审稿人的意见。

关于分离菌株的血清型鉴定，我们对于所有 STEC 菌株均进行了全部 O 血清群和 H 型的鉴定，所有确定为非 O157 血清群的菌株，均纳入到本研究中。

对于 O157 STEC 的分离，目前具有非常成熟的方法，主要利用菌株具有不发酵山梨醇且具有亚碲酸钾抗性的特点，常采用的培养基是头孢菌素亚碲酸钾-山梨醇麦康凯琼脂（CT-SMAC）或商品化选择性培养基，如 Chromagar O157，并结合 O157 免疫磁珠进行富集分离，可以大大提高菌株分离率。由于非 O157 STEC 是一大类遗传多样性的菌株，目前尚未发现有效的具有共性的表型特征用于菌株分离，因此对于非 O157 STEC 的非常有效的分离方法仍在探索中，不同研究者对非 O157 STEC 的分离方法各异。

考虑到之前我国尚无系统的非 O157 STEC 的数据，我们前期对我国的猪、市售食品等进行了非 O157 STEC 的调查。因分离成本和研究目的，我们将目前集中在所有 STEC 的分离，采用的培养基是麦康凯、科马嘉 ECC 及科马嘉 STEC，而没有针对性地分离 STEC O157。在这样分离方法下，只分离到了非 O157 STEC 菌株。

对于腹泻患者，根据我国 O157 STEC 的主动监测数据，其菌株分离率非常低（ <0.1 ），而非 O157 STEC 的分离率约为 0.5-1%（Bai X, et al., *Molecular and Phylogenetic Characterization of Non-O157 Shiga Toxin-Producing Escherichia coli Strains in China*. *Front Cell Infect Microbiol*. 2016 Nov; 6:143.）。

2. 菌株收集的地域以及时间？不同血清型以及毒力基因的分离株是否有地域与时间的聚集性或演变趋势？

已进行了相应的修改，见 1.1 和讨论部分。如前所述，STEC 的分离率相对较低，特别是腹泻患者的分离率更低。本研究涉及的 434 株菌株，来自不同的时间段、不同目的调查，以及地方疾病预防控制中心在常规检测和监测工作中分离到的菌株，分离的时间跨度为 2009-2016 年，主要地方包括河南、青海、北京、四川、上海、深圳，此方面信息已补充至 1.1。

根据目前菌株的分析结果，非 O157 STEC 具有较大的多样性，在我国没有

出现聚集性病例或暴发的情况下，不同来源的菌株尚不能发现具有任何有地域与时间的聚集性或演变趋势。相关论述已增加至讨论部分。

3.采集标本种类的选择？基于文献，不同宿主动物 O157 与非 O157 STEC 菌株的分离情况？为何此次研究的菌株选择从这些宿主动物分离？

已进行了相应的修改。标本基于之前的研究，主要包括 STEC 的主要宿主如猪、牦牛、肉牛、羊，以及市售生猪肉、牛肉、羊肉、鸡肉、鸭肉等。不同宿主的分离率稍有差异，但普遍高于腹泻患者的菌株分离率。

4.腹泻患者及健康从业人员的人口学信息？为何分离自健康从业人员的 4 株菌均含有志贺毒素基因，而没有导致疾病发生？什么样的考虑在健康从业人员中进行菌株分离？具体什么职业？腹泻患者的临床症状？是否同于既往 O157 所引起的临床症状？

腹泻患者的来源非常广泛，涉及数千人，主要来自河南睢县、上海、深圳龙岗及四川自贡等地疾控中心的腹泻病原调查。健康人主要是深圳龙岗区 2013-2015 年的 3000 余人次的健康从业人员体检。

除所有菌株均带有志贺毒素外，由于 STEC 菌株间的差异较大，不同菌株间携带的毒力因子种类会有很大差异，志贺毒素基因是 STEC 的主要致病因素，而其他致病因子也在疾病进程中起重要作用。此外，细菌的致病是宿主机体和细菌相互作用的结果，宿主的易感性等会影响志贺毒素基因等毒力基因的表达。同其他感染性疾病一样，STEC 也存在无症状感染者。

对健康从业人员进行 STEC 分离，主要是考虑 STEC 引起无症状感染的情况以及菌株的特征。所有分离非 O157 STEC 菌株的腹泻患者，其临床症状均为一般性腹泻，尚无血性腹泻病例，也无 HUS 等并发症。这点与 O157 STEC 能引起一定比例的血性腹泻及 HUS 不同，可能反应了非 O157 STEC 菌株毒力相对较弱，如菌株携带 *stx1* 的比例较高有关。

5.STEC 的定义是根据毒力基因，血清分型不是鉴定 STEC 的必要条件。建议作者按照目前国际通用的 STEC 定义解读所有的受试菌株。

已进行了相应的修改和规范。O 抗原及 H 抗原的血清型分型是大肠杆菌流行病学调查的一种重要分型方法，对于指导疫情调查或者疾病检测具有重要的意义。如我们对 STEC O157 的主动检测，而欧美等发达国家除对 O157 进行主动检测外，对其他几种重要的血清型如 O26、O45、O103、O111、O121、O145 也相对重视。

6、在结果部分先将所有菌株的毒力因子的结果详细列出并讨论。语言需精炼准确。

已进行了相应的修改，见 2.3。由于 *ehxA* 基因检出率较高（143/434），因此仅补充了同时携带 *stx*、*eae* 和 *ehxA* 基因的 15 株具有高致病潜力分离株的毒力基因分布图。

复审专家意见及作者修改说明:

1. 请根据本文结果, 对我国 STEC 的监测策略提出具体建议。请仔细修改全篇的文字, 精准、简练, 避免重复。

接受修改意见, 补充至讨论部分。

2. 建议补充流行病学的相关信息, 以对我国后续其他省市的工作提供建议, 如本研究是什么样的研究设计, 采样点与采样动物以及腹泻患者的选择原则等。目前修改稿中虽然增加了相关信息, 但还是没能完全阐释。菌株数量很大, 时间跨度也久, 如能继续完善应该补充修改, 摘要中也应与正文一致, 有流行病学信息。

我们对本研究涉及的所有菌株信息进行了归类整理, 作为表 1。由于所有菌株不是按照符合流行病学设计的既定目标收集的, 而是来自所有目前可获得的菌株。包括我们前期不同专题调查的菌株、全国不同疾控中心开展非 O157 STEC 检测工作中送检的符合菌株。

O157:H7 为 STEC 常见的血清型, 由于其致病力强、流行范围广等, 到 2016 年, 大肠杆菌 O157:H7 开展的国家监测点共 9 个, 分布在 4 个省份, 包括江苏省、安徽省、河南省以及山东省, 对 STEC O157:H7 进行主动监测。但是近年来, 非 O157 STEC 在世界范围内引起的感染逐渐上升, 我国目前仍尚无系统的非 O157 STEC 的数据。如前所述, 我们前期对我国的猪、牦牛、市售食品等进行了非 O157 STEC 的调查, 但是我们收集的菌株还是以被动监测方式采集为主。本研究涉及的 434 株菌株, 来自不同的时间段、不同目的调查, 以及地方疾病预防控制中心在常规检测和监测工作中分离到的菌株, 如腹泻患者的来自河南睢县、上海、深圳龙岗及四川自贡等地疾控中心的腹泻病原调查, 健康人主要是深圳龙岗区 2013-2015 年的 3000 余人次的健康从业人员体检, 这些菌株有些是我们在调查中收集的菌株, 有的是地方 CDC 分离偶然得到的。由于部分调查结果表明, 牛、猪、羊动物宿主、生肉类样品、腹泻病例非 O157 产志贺毒素大肠杆菌的分离率高于监测点大肠杆菌 O157:H7 的分离率, 在这样的背景下, 探索对于非 O157 STEC 的有效的分离方法, 调整监测方案, 是否将我国 O157 STEC 的主动监测逐步扩大到对 STEC 进行主动监测将会是我们以后工作中讨论的内容。

—————定稿会意见与答复—————

定稿会意见:

1. 非 O157 监测对全国和地方都有指导意义, 建议增加公共卫生意义。

已添加至讨论部分。

面对非 O157 STEC 世界范围内感染日益上升的趋势和当前传染病防治的复杂形势, 本研究通过分析我国非 O157 STEC 血清型和毒力基因流行情况, 建议开展有针对性的包括 O157:H7 在内的不同血清型 STEC 的监测检测和监测, 不仅对于提高及早识别 STEC 暴发风险的能力, 有效应对暴发疫情, 及时采取预防控制措施, 还是对于降低人群 STEC 感染的风险, 减少 STEC 感染所带来的疾病负担都具有重要意义。

2. 请作者认真核查数据，确保无误，编辑部最新要求全文百分比类的数据保留两位有效数字，统计相关数据保留三位。且仔细核实文章错别字！
已进行修改和核实

本文经这次修改后，基本达到要求，可以发表，谢谢！