

《疾病监测》审稿意见与作者答复

题目：中国侵袭性肺炎链球菌 19A、19F 血清型的基因分型分析

作者： 严彩芳 赵红庆 高源 朱兵清 徐丽 高朝辉 邵祝军

——审稿专家意见与答复——

审稿专家意见及作者修改说明：

审稿专家 1

问题 1 ST876 (2 株, 5%), ST4560 (1 株, 3%), ST9230 (1 株, 3%), ST7759 (1 株, 3%), ST6429 (1 株, 3%)。22 株侵袭性肺炎链球菌 19F 血清型菌株包括 7 个 ST 型, 其中 ST271 型 14 株, 占 64%, 为优势基因型。ST236 (1 株, 4.5%), ST320 (2 株, 9%), ST1937 (2 株, 9%), ST6993 (1 株, 4.5%), ST9236 (1 株, 4.5%), ST9240 (1 株, 4.5%)。

回答 在文中已增加“其它 6 株分别为”和“其余 8 株分别为”表述

问题 2 CC320/271 与 ST320/271 间有何相关性, 何为 CC 型, 何为 ST 型, 请在前言简介

回答 ST 分型是针对肺炎链球菌 7 个管家基因进行的基因分型, 当不同 ST 型的 7 个管家基因中有 4 个以上管家基因的等位基因位点相同时, 可将这些 ST 型聚类为一个克隆群 (clonal complex, CC)。同一个 CC 中的菌株可以有不同的 ST 型, 也可以有不同的血清型, 等位基因的变化, 可以作为研究菌株基因变异的根据。

问题 3 临床诊断为什么病例

回答 肺炎、脑膜炎病人, 采集血液和脑脊液标本进行细菌的分离培养鉴定。

问题 4 中国 CDC 实验室网络? 此话有逻辑错误, 是否应为全国 xX 网络? 来源于几家网络实验室?

回答 全国疾病预防控制中心细菌性疫苗可预防疾病实验室监测网络, 属于多中心研究, 所有的肺炎链球菌菌株来自 10 个监测点, 具有一定的代表性。包括其他血清型的肺炎链球菌, 本研究关注的是 19A 和 19F 血清型菌株, 研究其主要流行基因型别和存在荚膜转换的可能性。

问题 5 “包括 35 株 19A 血清型肺炎链球菌和 22 株 19F 血清型肺炎链球菌。”此为 1.2 实验结果, 建议放在结果中描述

回答 已将内容放到结果部分

问题 6 试剂、仪器来源需明确

回答 革兰染色 (革兰染液试剂盒, 法国生物梅里埃公司)、奥普托欣敏感性实验 (DDI Optochin, 英国 OXOID 公司) 以及胆汁溶解实验 (脱氧胆酸钠, 日本 Sigma 公司) 进行生化鉴定, 采用肺炎链球菌血清荚膜肿胀实验 (肺炎链球菌分型诊断血清, 丹麦 Statens Serum Institute 公司)

问题 7 什么试剂盒?

回答 GoTaq® Green Master Mix (美国 Promega 公司)

问题 8 2.1 侵袭性肺炎链球菌 19A、19F 血清型菌株的 ST 型分布 35 株侵袭性肺炎链球菌 19A 血清型菌株共有 6 种 ST 型, 其中 ST320 (29 株, 83%), ST876

(2 株, 5%), ST4560 (1 株, 3%), ST9230 (1 株, 3%), ST7759 (1 株, 3%), ST6429 (1 株, 3%)。22 株侵袭性肺炎链球菌 19F 血清型菌株共有 7 种 ST 型, 其中 ST271 (14 株, 64%), ST236 (1 株, 4.5%), ST320 (2 株, 9%), ST1937 (2 株, 9%), ST6993 (1 株, 4.5%), ST9236 (1 株, 4.5%), ST9240 (1 株, 4.5%)。建议增加一个小标题, 为菌株鉴定结果

回答 已在文中加入菌株鉴定结果

问题 9 详见图 1。 图与文字描述内容重复, 建议删除图

回答 已将图片删除

问题 10 图中红色部分代表 19A 血清型肺炎链球菌菌株, 绿色部分代表 19F 血清型肺炎链球菌菌株, 圆圈大小代表菌株数目多少。 此说明请作为图注标注在图下方

回答 已经作为图注标注在图的下方

问题 11 这表明如果有荚膜转换发生, ST320 基因型的肺炎链球菌更容易在 19A 和 19F 血清型中进行荚膜转换。这可能与 ST320 的多药耐药 (MDR) 特点有关, 有助于其进行繁殖扩张。 此句建议放在讨论中, 并援引 ST320 为 MDR 的文献

回答 已将内容放在讨论部分, 且引用相关文献。

问题 12 另外, 从聚类图中可以看到, 19F 血清型的肺炎链球菌, 其不同 ST 型聚类集中, 以 ST271 为中心, 其余 6 种 ST 型均匀分布在 ST271 周围。在 MLST 数据库中查询发现, ST271 与其它 6 种 ST 型均只有一个管家基因的等位基因号不同; 建议放在讨论中

回答 已将该部分内容放在讨论中

问题 13 ? 哪些?

回答 ST4560, ST7759 和 ST9230, 已在文中修改

问题 14 肺炎链球菌可分为 48 个血清群, 90 多个血清型, 与前言重复

回答 已将内容删除, 重新进行表述

问题 15 主要是基于美国及其他各国肺炎链球菌流行病学监测数据, 发现 19A 导致的侵袭性肺炎球菌病例上升。 应引用文献, 并具体说明数据

回答 已引用相关文献数据

问题 16 能否具体说明管家基因与荚膜蛋白的相关性, 从而明确基因型与血清型、荚膜之间的相关性。CC320/271 是指两个基因型都是先在 19F 中存在, 后来在 19A 中存在吗? 则上句中 19A 主要是 320 型, 19F 也检测到 320 型, 逻辑矛盾, 请作者斟酌。

回答 CC 和 ST 是基因分型, 而荚膜则与肺炎链球菌血清型相关, 属于表型分型, 根据荚膜多糖免疫化学特性的不同, 将肺炎链球菌分为多个血清型。因此, 研究认为 CC320/271 克隆群菌株的基因型并未发生改变, 只是荚膜转换导致了 19F 血清型和 19A 血清型这一表型的变化。

问题 17 本研究所收集的 57 株侵袭性肺炎链球菌 19A 和 19F 血清型菌株中, ST320/271 为主要的基因型, ST271 型全部为 19F 血清型菌株, 19A 血清型菌株未检测到 ST271。19A 血清型肺炎链球菌主要型别为 ST320, 而 19F 血清型菌株中也检测到 2 株 ST320 型别。 内容做顺序调整

回答 已在文中将该段内容进行了顺序调整

问题 18 19A 菌株中存在 ST876 (2 株, 5%), ST4560 (1 株, 3%), ST9230 (1 株, 3%), ST7759 (1 株, 3%), ST6429 (1 株, 3%) 等型别。19F 菌株

中存在 ST236 (1 株, 4.5%), ST320 (2 株, 9%), ST1937 (2 株, 9%), ST6993 (1 株, 4.5%), ST9236 (1 株, 4.5%), ST9240 (1 株, 4.5%), 与结果完全重复, 可不必介绍数字、占比

回答 已将重复内容删除

问题 19 逻辑不清, 19F 中各基因型与 19F 中的 271 型有 1 个等位基因差异, 为何又与 19A 有荚膜转换了?

回答 19F 菌株中的 ST236, ST320, ST1937, ST6993, ST9236, ST9240 均与 ST271 仅有 1 个等位基因位点的差异, 除 ST320 型外, 这些 ST 型都有可能在基因型不发生改变的情况下, 发生荚膜转换而导致表型的改变, 从而表现为 19A 血清型肺炎链球菌。相同的血清型可以有不同的基因型, 相同的基因型也可以有不同的血清型。通过 ST 型别的研究可以初步提供不同表型的菌株发生荚膜转换的可能性。

问题 20 随着肺炎球菌 PCV13 的应用 内容删除

回答 在文中已进行删除

审稿专家 2

意见为: 该文短小简练, 作为基础性研究, 可以发表, 无需修改。关于肺炎链球菌疫苗, 在儿童疾病谱中是没有意义的, 是巨大浪费。目前由肺炎链球菌引起的儿童疾病为罕见了, 临床上痰培养阳性的, 多为定植菌, 并无针对治疗。儿童最为常见的是支原体、流感病毒、RSV、副流感等, 今年增加了百日咳杆菌高发。因此, 未作修改。感谢专家所提出的关于肺炎链球菌疾病和疫苗方面的见解。

审稿专家 3

问题 1 英文摘要存在中英文标点混用的问题; 另外有些表述存在问题例如“19A, 19F

serotype”一般为“serotype 19A, 19F”

回答 在文中已进行修改。

问题 2 “引物序列参照肺炎链球菌 MLST 网站 (<http://spneumoniae.mlst.net/>) 所提供序列, ”请给出引物序列列表, 以便读者参考

回答 在文中已给出相关引物序列信息表。

-----定稿会意见与答复-----

定稿会意见:

本文经这次修改后, 基本达到要求, 可以发表, 谢谢!