**审稿意见与作者修改说明（稿号：2020-0025）**

——————————————**初审专家意见与作者修改说明**—————————————

专家意见：

专家一意见：

本研究通过鼻饲感染小鼠后检测肺内盖尔森基兴诺卡菌的菌载量变化趋势、以及感染过程中肺及血清中细胞因子的分泌特征，对了解该菌感染宿主引起免疫应答特征具有一定的创新性和研究价值，对建立优化动物感染模型有参考意义。研究思路科学合理，研究方法可靠，但有以下几个问题可考虑完善修改：

1 多数杂志有明确要求体内动物实验每组动物个数至少六只用于统计分析，增加显著差异的机会。

答：您好，非常感谢您在百忙之中抽出宝贵的时间审阅稿件。首先，感谢您的宝贵建议，我们同意在增加研究对象数量的基础上进行统计学分析会更有说服力。在本研究中，每组小鼠的数量为5只。由于考虑到试验组与对照组的组内数据稳定性均较好，而且组间有显著性差异，因此本研究的结果还是值得信任的

2. 眼球取血和断髓处死动物在没有麻醉前提是违背动物伦理额。

答：感谢您的宝贵建议，在眼球取血及处死动物前，我们给与了腹腔静脉麻醉，由于疏忽在文未提及，我们已在文稿中给予完善。

3. 如果把细菌载量和多种细胞因子进行相关性分析，明确细菌清除和那些细胞因子具有显著的正相关和负相关，对分析细胞因子对细菌清除的意义更有价值。

答：感谢您的宝贵建议。我们十分同意您的观点，我们已经对各个细胞因子与菌载量之间的相关性给予分析，结果表明相关性很好，确实为说明细胞因子对细菌清除的意义提供了很大的帮助。

4 另外作为细菌感染的动物模型，细菌24小时就被清除，炎性因子一过性增高，一般很难建立肺组织的病理炎性损伤，本文也没提供肺组织的病理图片，也没有不同感染剂量做对比，难以判断肺感染模型是否建立优化。

答：感谢您的宝贵建议。在我们之前发表的一篇文章中[1]已经用不同浓度的该菌感染小鼠，确定了致死量。本研究所给的剂量是在几次预实验中不断优化的，在这个浓度下，不会导致小鼠死亡，但是会使小鼠出现相应的典型病理症状，利于我们观察小鼠清除诺卡菌的过程，具有较好的说服性。

5 对血清和肺组织的细胞因子变化没有关联分析可讨论，没能更深入挖掘数据的价值和意义。

答：感谢您的宝贵意见。我们补充了一些前人做的关于诺卡菌与细胞因子的探讨，而且我们发现在血清中以及在肺组织中的同一个细胞因子的分泌量没有明显的关联，差异较大，证明细胞因子局部作用的特点。

6. 感染组动物的促炎和抑制因子都有增高，IL-2一般不像TNF-α 或 IL-1β被视为促炎因子，建议不做因子分类，主要是客观描述在24小时细菌清除过程中，局部和全身多种细胞因子的参与和变化。

答：感谢您的宝贵意见。我们已经按照您的意见给以修改。

7. 对文章的缺失信息比如可能在预实验中完成的不同感染剂量摸索，敏感动物品系摸索或文献参考等。如何确定6,12，24，48时间点的选择依据等进行说明。是否高感染剂量可能肺菌量定植更高时间更久？讨论其他文献用哪种品系小鼠感染剂量和清除时间等，能增加本研究的数据信息价值。

答：感谢您的问题，这个问题很重要。我们阅读了大量的文章，关于研究诺卡菌所用的小鼠大部分为BALB/c小鼠，该品系小鼠为诺卡菌的敏感动物。我们在之前发表的一篇文章中[1]已研究了不同剂量对小鼠的影响，明确了其致死剂量。在本研究所用的这个浓度下，不会导致小鼠死亡，但是会使小鼠出现相应的典型病理症状，利于我们观察小鼠清除诺卡菌的过程，具有较好的说服性。关于6,12，24，48时间点是根据小鼠在感染后的症状做出的选择，分别对应小鼠急性感染，严重，好转，恢复。根据您的建议，我们也增加了其他学者用该菌株对BALB/c小鼠所做的实验，其结果跟我们相似。

[1]. Han Lichao, Ji Xingzhao, Xu Shuai, et al. Microbiological profile of distinct virulence of Nocardia cyriacigeorgica strains in vivo and in vitro[J]. Microbial Pathogenesis, 2020. 142: p. 104042. DOI:https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104042

专家二意见

1、本文题目是“ 盖尔森基兴诺卡菌感染小鼠后细胞因子分泌特征研究”，但本文只描述了一株盖尔森基兴诺卡菌（GUH-2）的细胞因子时间动力学结果，这株菌的结果是否能代表盖尔森基兴诺卡菌？建议增加试验菌株数量，以增加本文的科学性；

答：您好，非常感谢您在百忙之中抽出时间审阅文稿。首先，感谢您的宝贵意见。我们十分认同您的观点，单纯某一个菌确实不能代表一个菌种的特点。GUH-2确实不能代表整个盖尔森基兴诺卡菌，我们决定把题目改成盖尔森基兴诺卡菌（Nocardia cyriacigeorgica GUH-2）感染小鼠后细胞因子分泌特征研究。

2、感染后小鼠外周血中的细菌菌落数也应该提供，以更好的解释血清细胞因子浓度变化情况；

答：感谢您的宝贵建议。您的这个建议很重要，我们同意您的这种观点。由于血液中的诺卡菌的菌载量很少，我们没有检测到诺卡菌所以在文中没有提及，我们已经将这方面补充于文中。

3、本文的讨论部分写成了类似综述的形式，未能对结果做进一步深入的挖掘。建议引用相关种属细菌相关研究的数据，做深入的对比，需要重新组织内容。

答：感谢您的宝贵意见。关于诺卡菌细胞因子方面的研究目前甚少，我们在讨论部分完善了相应的部分，补充了关于其他学者所做的工作探讨。

4、其它问题：作者使用ELISA结果检测细胞因子浓度，为避免歧义，建议不要使用“表达（expression）”的表述，改为“浓度（concentration）”。

答：感谢您的宝贵建议，我们同意您的观点，我们已经按照您的观点，给予修改。

——————————————**复审专家意见与作者修改说明**—————————————

专家意见：

作者按照审稿意见修改完毕，达到发表要求，请以发表。

——————————————**定稿会意见与作者修改说明**——————————————

本文经这次修改后，基本达到要求，可以发表，谢谢！