**审稿意见与作者修改说明（稿号：2019-0747）**

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

专家意见：

来稿本研究针对试管凝集滴度小于1:100存在且布鲁氏菌病相应症状未持续一年的患者，探讨其外周血淋巴细胞中布鲁氏菌DNA在用于临床诊断中的应用可能性，全血外周血淋巴细胞核酸布鲁氏菌DNA检测可尝试用于血清抗体检测阴性的患者的初步诊断，为布鲁氏菌病的诊断提供新的补充方法。建议经修改后再审，修改意见如下。

1.来稿主要进行全血外周血淋巴细胞、血清中布鲁氏菌DNA检测敏感性的比较，但对全血外周血淋巴细胞DNA来源描述太简单，只交代“取1ml患者全血置于细胞培养皿中，加入细胞培养液（试剂盒内附带）后，按照血液布鲁氏菌DNA提取试剂盒的操作说明进行”，如何保证DNA确实来源于“外周血淋巴细胞”？所用试剂盒为“血液布鲁氏菌DNA提取试剂盒（内蒙古民族大学布鲁氏菌病研究所研制，由通辽市龙鑫生物科技有限公司生产，试剂盒备案号：内通械20170001）”，该试剂盒是否国家正式批准的试剂盒？能提供培养“外周血淋巴细胞”的条件？作者应该交代清楚。

回复：谢谢专家的宝贵建议。文中涉及的血液布鲁氏菌DNA提取试剂盒已通过药监局一类备案，是药监局批准生产的。试剂盒包含Solution I-V组成，分别针对血清和血液有不同的操作方案。通过Solution I和II的处理，能够保证培养的细胞为外周血淋巴细胞。分离外周血淋巴细胞的操作方法比较成熟，已有研究在多种动物及人上分离外周血淋巴细胞[1, 2]。外周血淋巴细胞的培养条件为“于5% CO2培养箱中37℃培养2 h”，该培养条件在修改稿中的“方法1.4”中添加。再次感谢专家的建议。

2.布鲁氏菌为细胞内寄生，为何用患者的血清与外周血淋巴细胞提取的DNA比较？而不是用全血？王季秋等2003年发表的“全血聚合酶链反应试验在诊断布氏菌病中的应用效果观察”一文，已证明用全血检测效果较好，作者应该引用该文献，并认真讨论。

回复：感谢专家的宝贵建议。全血与血清的区别在于：全血中含有红细胞，白细胞和血小板，还含有各种凝血因子；而血清中没有各种血细胞，没有各种凝血因子，其它成分血清和全血是相同的。因此，相对于全血，血清的优势在于减少了对宿主细胞和全血中存在的其他物质的抑制，并且不需要溶解红细胞[3]。布鲁氏菌侵入机体后在淋巴细胞内聚集，因此，外周血淋巴细胞核酸诊断布鲁氏菌病优势在于可在特异性抗体产生之前，即可检出。关于检测方法这部分，我们在讨论的第二段中进行添加，修改后如下：

3.其他小的修改见修订稿。

回复：感谢专家的宝贵意见。对于文中出现的不当之处我们表示非常抱歉，感谢专家提出的纠正意见。同时，我们认真阅读了文章，将其他不当之处进行了修改，具体见修改稿。

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

专家意见：

修改稿已按修改意见进行了修改，尚有几处小的修改见修订稿，修改后可以录用。

——————————————**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！