

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۳/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۵/۲۴

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال سی و دوم / شماره ۲۹۵ / هفته چهارم شهریور ماه ۱۳۹۳

بروسلا: بیماری زایی، واکنش سیستم ایمنی و واکنش

دکتر امیر قاسمی^۱، دکتر رضا رنجبر^۲

مقاله مروری

چکیده

باکتری‌های جنس بروسلا، پاتوژن‌هایی داخل سلولی هستند که می‌توانند در داخل ماکروفاژهای بدن میزبان خود، تکثیر و به بقای خود ادامه دهند که حاصل آن مشکلات بسیاری برای میزبان به وجود خواهد آورد. نتایج مطالعات اخیر پیشرفت‌هایی در زمینه‌ی چگونگی بقا و تکثیر داخل سلولی این باکتری را نشان می‌دهد. در این مقاله، آخرین یافته‌ها در این زمینه مورد مرور و بررسی قرار می‌گیرد. همچنین واکنش ایمنی بدن میزبان به این پاتوژن و استراتژی‌های جدید به کار رفته به منظور ساخت واکنش علیه این باکتری، بررسی می‌شود.

واژگان کلیدی: بروسلا، واکنش بیماری زایی، ماکروفاژ

ارجاع: قاسمی امیر، رنجبر رضا. بروسلا: بیماری زایی، واکنش سیستم ایمنی و واکنش. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۵): ??

مقدمه

آبورتوس (B.abortus) (گاو)، بروسلاویس (B.ovis) (گوسفند)، بروسلا کنیس (B.canis) (سگ)، بروسلا نئوتوما (B.neotomae) (موش) و بروسلا ماریس (B.maritima) (پستانداران دریایی) می‌باشند (۲-۳). بروسلا آبورتوس باعث ایجاد سقط در گاو و در نتیجه صدمات جدی اقتصادی به کشاورزان می‌شود. در حال حاضر، بروسلا آبورتوس سویه RB5 و یا بروسلا ملی تنسیس REV.1 برای ایمن‌سازی گاو و ایمن‌سازی بز و گوسفند مورد استفاده قرار می‌گیرند (۴). اگر چه بروسلا یک پاتوژن واقعی است، اما سیستم‌های ترشحي نوع I، II، III و جزایر بیماری‌زایی (Pathogenicity islands) در آن یافت نشده است. با این حال، بروسلا ملی تنسیس حاوی ژن کد کننده‌ی تازک خاص نوع III و سیستم ترشحي IV می‌باشد (۵-۶).

بروسلاها باکتری‌های کوکوباسیل گرم منفی کوچک، باریک و کوتاهی هستند که گاهی به شکل باسیل و یا کوکسی نیز مشاهده می‌شوند. حدود $1/5-0/6 \mu m$ طول و $0/5-0/7 \mu m$ عرض دارند. غیر متحرکند و اسپور تولید نمی‌کنند. از منابع طبیعی، شکل L-form باکتری نیز جداسازی شده است (۱). تمامی سویه‌های بروسلا هوازی هستند و برای رشدشان به اکسیژن نیاز دارند. بعضی سویه‌ها کاپنوفیل (Capnophile) هستند و به مکمل CO_2 نیاز دارند. از نظر نوع میزبان و تغییرات آنتی‌ژنیک جنس بروسلا به هفت گونه تقسیم شده است که شامل بروسلا ملی تنسیس (Brucella melitensis) (گوسفند و بز)، بروسلا سویس (B.suis) (خوک)، بروسلا

۱- استادیار، گروه میکروبیولوژی و ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۲- دانشیار، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌اله (عج)، تهران، ایران

دارد (۱۰) که نشان دهنده‌ی حضور گیرنده‌هایی بر روی نواحی خاصی از غشای پلاسمایی است. پروتئین پرایون (Prion) (PrPc) و گیرنده‌ی اسکونجر کلاس ۱ (SR-A) به ترتیب به عنوان گیرنده‌ای برای اتصال Hsp60 در معرض سطح سلولی قرار می‌گیرد و LPS (Lipopolysaccharide) بروسلا پیشنهاد شده است (۱۱)، اما نقش PrPc در عفونت بروسلا هنوز مورد بحث است (۱۲).

از بین بردن این گروه‌های چربی، بقای اولیه‌ی بروسلا در درون ماکروفاژها را به میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد، که نشان دهنده‌ی این است که ورود وابسته به این دسته‌های چربی برای بقای اولیه‌ی باکتری مورد نیاز است (۱۳، ۱۰).

چنین حالتی از ورود، بروسلا را قادر می‌سازد به دلیل حضور این دسته‌های چربی، از هر گونه تعاملی با مسیرهای درون سلولی اجتناب کند (۱۴). به دلیل این یافته، این فرضیه شکل گرفته است که در مراحل ابتدایی ورود، واکوئل‌های تشکیل شده‌ی حاوی باکتری‌های (Brucella-containing vacuoles) فقط به طور گذرا با قسمت‌های اولیه‌ی مسیرهای تجزیه‌ی داخل سلولی ماکروفاژها و اپیتلوئیدها (Epithelioid) درگیر شوند (۱۷-۱۵) و در ادامه، بروسلا می‌تواند به سرعت خود را از مسیرهای تجزیه‌ی داخل سلولی محفوظ نگه دارد (۱۸).

گزارش شده است که موتان‌های خشن B. suis که فاقد زنجیره‌ی LPS-O هستند، با استفاده از روشی مستقل از دسته‌های چربی وارد ماکروفاژها می‌شوند و واکوئل‌های حاوی باکتری به سرعت با لیزوزوم متصل می‌شوند (۱۸). این نتایج علاوه بر تأیید بقای اولیه با ورود به واسطه‌ی دسته‌های چربی و اهمیت

در حال حاضر، شش گروه از باکتریوفاژها به عنوان لیز کننده برای بروسلا شناخته شده‌اند. با این حال، وجود باکتریوسینی خاص بروسلا و یا هیچ مدرکی دال بر انتقال ژن از طریق باکتریوفاژها تأیید نشده است (۲). عفونت بروسلا از طریق استنشاق یا بلع میکروارگانیزم‌ها و از طریق حفرات بینی، دهان و حلق رخ می‌دهد (۷).

بیماری‌زایی

به طور کلی، بروسلا در تمامی میزبان‌های خود رشد داخل سلولی دارد و پس از عبور از سد رتیкулواندوتلیال (Reticuloendothelial system) مراحل متغیر باکترییمی (Bacterimic) را سپری می‌شود. همچنین بروسلا در میزبان‌های خود، توانایی آلوده کردن بافت‌های دستگاه تناسلی و غدد جنسی را دارد.

راه‌های بقای بروسلا در درون سلول ماکروفاژ

با توجه به میزان بالای عفونت‌زایی، بروسلا به تازگی به عنوان یک عامل بالقوه در جنگ‌های بیولوژیکی طبقه‌بندی شده است (۸). توجه به زیست‌شناسی این پاتوژن، به ویژه به عنوان یک مدل پیچیده‌ی انگل درون سلولی در حال افزایش می‌باشد. بیماری‌زایی بروسلا، اغلب در توانایی این میکروارگانیزم در وارد شدن، زنده ماندن و تکثیر شدن در داخل سلول‌های فاگوسیتوزی و غیر فاگوسیتوزی می‌باشد که در این میان، ماکروفاژها عمده‌ترین هدف در پستانداران آلوده هستند (۹).

۱- ورود باکتری به عنوان عامل تعیین کننده در

بقای داخل سلولی

ورود بروسلا به ماکروفاژها نیاز به گروهی از چربی‌ها

رتیکولوم اندوپلاسمی را ندارند (۲۲).

نشان داده شده است که افزودن بتا ۱،۲-گلوکان حلقوی از یک منبع خارجی به موتان‌های cgs طی رشد و قبل از عفونی کردن سلول، می‌تواند باعث احیای رفت و آمد داخل سلولی مؤثر بروسلا همراه با تکثیر شود (۱۹).

به موتان‌هایی که بتا ۱،۲-گلوکان حلقوی اضافه شد، سوش‌های موتان توانستند از الحاق واکوئل حاوی باکتری با لیزوزوم جلوگیری کنند و در نهایت، در ارگانل‌های مشتق شده از غشای رتیکولاندوپلاسمی تکثیر داشته باشند. عملکرد بتا ۱،۲-گلوکان حلقوی بدین نحو است که این ترکیب، توانایی استخراج کلاسترول از غشای یوکاریوتی را دارد و این عملکرد می‌تواند در برداشتن دسته‌های غنی از چربی و کلاسترول (که همچنین از نظر Flotillin-۱ غنی هستند)، از روی واکوئل حاوی باکتری مؤثر باشد.

گفته شده است فلوتینین-۱ در امر سیگنال‌دهی به مسیر سیگنال‌دهی در داخل سلولی و فعال کردن آن دخالت دارد. در نتیجه بتا ۱،۲-گلوکان حلقوی ترشح شده به وسیله بروسلا در داخل واکوئل حاوی باکتری در عمل، پوششی از دیواره‌ی سلول یوکاریوتی سازنده‌ی واکوئل در اطراف خود ایجاد می‌کند که فاقد فلوتینین-۱ است. این عمل، باعث فراخوانی مسیر تجزیه‌ی داخل سلولی و به دنبال آن، جلوگیری از اتصال واکوئل با لیزوزوم می‌شود (۲۳).

با این وجود، کشف بتا ۱،۲-گلوکان حلقوی در بروسلا نشان می‌دهد که این باکتری از استراتژی‌های متفاوتی برای جلوگیری از تجزیه‌ی داخل سلولی در مراحل اولیه‌ی ورود استفاده می‌کند (۲۴).

زیاد LPS سالم و دست نخورده در این فرایند، نشان می‌دهد که بقای اولیه در هنگام ورود به سلول حاصل اجتناب از الحاق لیزوزوم و واکوئل‌های حاوی بروسلا است.

سویه‌های بروسلا دارای LPS صاف (Smooth) کشته شده به وسیله‌ی حرارت، هنوز می‌توانند از الحاق واکوئل‌های حاوی باکتری با لیزوزوم حتی بیشتر از موتان‌های خشن (Rough) جلوگیری کنند. با این حال، تأثیر مرتبط با LPS صاف در جلوگیری از الحاق با لیزوزوم گذرا است و موجب بقای طولانی مدت بروسلا در داخل سلول نمی‌شود. این امر، نشان دهنده‌ی دیگر عوامل مورد نیاز برای کامل کردن سیکل داخل سلولی باکتری‌ها می‌باشد.

۲- بتا ۱،۲-گلوکان حلقوی (Cyclic glucan) از الحاق با لیزوزوم جلوگیری می‌کند

مکانیسم دیگری که به وسیله‌ی بروسلا به منظور اجتناب از ملحق شدن با لیزوزوم به کار گرفته شده است، ترشح بتا ۱،۲-گلوکان حلقوی می‌باشد (۱۹). این ماده، به طور معمول یک جزء پریپلاسمی است که به وسیله‌ی آلفا پروتئوباکتری‌ها تولید می‌شود. یکی از نقش‌های نسبت داده شده به این ماده، تنظیم فشار اسمزی است (۲۰). مورد دیگری که در مورد عملکرد این محصول پیشنهاد شده است، جلوگیری از واکنش دفاعی گیاه در مقابل یک نوع باکتری همزیست با گیاه (*Bradyrhizobium japonicum*) می‌باشد (۲۱).

بروسلا‌هایی که نقص در ژن تولیدکننده‌ی بتا ۱،۲-گلوکان حلقوی (cgs یا Cyclic glucan synthesis) دارند، توانایی اجتناب از الحاق با لیزوزوم و یا رسیدن به ارگانل‌های مشتق شده از

۳- سیستم ترشحي نوع چهار و تکامل نوعی از

ارگانل که قابلیت تکثیر باکتری را درون خود می‌دهد

الف- بلوغ واکوئل حاوی بروسلا درون ارگانل

مشتق شده از سیستم رتیکولاندوتلیال

با وجود عدم الحاق واکوئل حاوی بروسلا با لیزوزوم، این واکوئل حاوی بروسلا با مسیر تجزیه‌ی داخل سلولی به طور گذرا واکنش می‌دهد. مراحل اولیه‌ی بلوغ واکوئل حاوی بروسلا با اسیدفیکاسیون آغاز می‌شود که همراه با به دست آوردن گلیکو پروتئین شماره ۱ غشایی لیزوزومی (LAMP۱) بر روی غشای واکوئل حاوی بروسلا است (۲۵). اما بعضی نشانگرهای مسیر تجزیه‌ی داخل سلولی انتهایی بر روی واکوئل حاوی بروسلا بالغ وجود ندارد و این نشان دهنده‌ی این است که واکوئل‌های حاوی بروسلا بالغ به سرعت از این مسیر جدا می‌شوند. اسیدفیکاسیون برای بقای بروسلا ضروری است (۲۶) و همچنین برای ترشح داخل سلولی سیستم ترشحي نوع چهار VirB مورد نیاز است (۲۷).

این موضوع نشان می‌دهد که واکنش محدود واکوئل‌های حاوی بروسلا با لیزوزوم اولیه، برای نقل و انتقال‌های بعدی این واکوئل‌های حاوی بروسلا در درون سلول ضروری است. بلوغ واکوئل‌های حاوی بروسلا حدود ۱۲ ساعت قبل از تکثیر بروسلا شروع و LAMP۱ را تا زمانی که به صورت تصاعدی از دست بدهند، حفظ می‌کنند.

در این مراحل دیده می‌شود که واکوئل‌های حاوی بروسلا با سیستم رتیکولاندوپلاسمی (Endoplasmic reticulum) به صورت فیزیکی واکنش داده است (۱۷). این واکنش طولانی مدت منجر به از دست دادن LAMP۱ و به دست آوردن

مولکول‌های اختصاصی رتیکولاندوپلاسمی می‌شود. این موضوع، نشان دهنده‌ی این است که بروسلا حرکت واکوئل میانجی خود را به درون یک ارگانل مشتق از اندوپلاسمیک کنترل می‌کند (۱۷).

آغاز تکثیر باکتری با تکامل ارگانل مشتق شده از رتیکولاندوپلاسم ارتباط دارد. این موضوع نشان دهنده‌ی این است که این ارگانل محیط مناسبی برای تکثیر بروسلا است. علت این که ارگانل‌ها می‌توانند محیط مناسبی برای تکثیر باکتری باشند، این است که مواد ضروری برای تکثیر باکتری در بخش‌های اولیه‌ی مسیر ورود باکتری وجود ندارد و زمانی که واکوئل‌های حاوی بروسلا به رتیکولاندوپلاسمی ملحق می‌شوند، منجر به در دسترس قرار گرفتن مواد ضروری برای تکثیر بروسلا می‌شود. در نتیجه، به دلیل بیان برخی از ژن‌ها در این مرحله و در دسترس بودن مواد غذایی مورد نیاز، باکتری شروع به تکثیر می‌کند. زمانی که تکثیر بروسلا آغاز شد، پرزده‌های دو برابر شدن بعدی از طریق تولید واکوئل‌ها جابجایی می‌دهد. تولید دو واکوئل حاوی بروسلا از یک واکوئل حاوی بروسلا، نیازمند به کارگیری مکانیسم‌های اضافی است که شاید از طریق انتقال بیشتری از غشای رتیکولاندوپلاسم به واکوئل حاوی بروسلا صورت می‌گیرد (۱۷).

ب- نقش سیستم ترشحي نوع چهار VirB در

بلوغ واکوئل حاوی بروسلا

شناسایی سیستم ترشحي نوع چهار به عنوان عامل بیماری‌زایی و تکثیر داخل سلولی، درک ما را از بقای طولانی مدت بروسلا و استراتژی‌های تکثیر آن افزایش داده است (۲۸).

علاوه بر این، پروتئین‌های شوک حرارتی به باکتری این توانایی را می‌دهند که در مقابل آنزیم‌های لیزوزمی که در فاگوزوم با آن روبه‌رو می‌شوند، مقاومت نشان دهند (۳۱-۳۲). عامل اصلی بیان پروتئین‌های شوک حرارتی، شاید پیچ‌های نامناسب پروتئین‌ها و آسیب‌هایی است که در داخل سلول به پروتئین‌های باکتری وارد می‌شود (۳۳).

نشان داده شده است که سویه‌های بروسلا سویس که دارای موتاسیون در ژن *dnak* هستند (این ژن جزء خانواده‌ی بزرگ *HSP70* است)، قدرت بیماری‌زایی خود را در رده‌ی سلول‌های ماکروفاژ انسانی از دست داده‌اند (۳۴).

همچنین سویه‌های بروسلا آبورتوس که دارای ژن فعال *htraA* نیستند (این امر منجر به نقص در تولید یک سرین پروتئاز می‌شود که به عنوان پروتئین شوک حرارتی عمل می‌کند)، به عنوان سوشی غیر بیماری‌زا در شرایط *In vivo* و *In vitro* در نظر گرفته می‌شوند. در این رو، ممکن است به دلیل مواجهه‌ی باکتری با شرایط سخت در داخل سلول، پروتئین‌های شوک حرارتی بیشتر تولید شوند و در بیماری‌زایی باکتری نقش عملی‌تری بازی کنند (۳۵).

عامل شماره‌ی لامیزبانی (*Hf1*): یک نوع چاپرون (*Chaperone*) است که در بسیاری از مسیرهای تنظیمی باکتری *E. coli* مشارکت دارد (۳۶). این پروتئین به عنوان پروتئینی که در مراحل بعد از رونویسی عمل می‌کند، شناخته شده است و می‌تواند بیان عامل سیگما و همچنین بیان ژن *Sigma S* (*RpoS*) را تنظیم کند. پروتئین *RpoS* در مرحله‌ی ثابت رشد باکتری، مورد نیاز است.

مطالعات بر روی حرکت داخل سلولی انواعی از موتانت‌های حذفی *VirB* آشکار کرده است که سیستم *VirB* در مراحل اولیه‌ی ورود به داخل سلول ماکروفاژ مورد نیاز نیست، اما برای رخدادهای انتهایی بلوغ واکوئل‌های حاوی بروسلا، در زمانی که واکوئل‌ها شروع به الحاق با رتیکولاندوپلاسم می‌کنند، مورد نیاز است (۲۹).

در اثبات این امر نشان داده شده است که موتانت‌های *VirB* و همچنین بروسلاهای تیپ وحشی طی اولین ساعات بعد از عفونت زنده می‌مانند؛ تا این که آن‌ها توانایی به دست آوردن نشانگرهای رتیکولاندوپلاسم را در مراحل انتهایی عفونت از دست بدهند. این امر، به دلیل عدم توانایی الحاق سویه‌های موتانت با این قسمت است. چنین سوشی‌های موتانت سرانجام با لیزوزوم ممزوج می‌شوند. در نتیجه، واکوئل مشتق شده از رتیکولاندوپلاسم، برای اجتناب طولانی مدت از الحاق با لیزوزوم مورد نیاز است. احتمال می‌رود این سیستم با ترشح مولکول‌هایی به داخل سلول میزبان بر عملکرد سلول در کنترل حرکت و الحاق باکتری به رتیکولاندوپلاسم تأثیر مثبت بگذارد (۳۰).

۴- پروتئین‌های شوک حرارتی (Heat shock proteins)

احتمال می‌رود پاتوژن‌های باکتریایی که مدت زمان طولانی را در فاگوسیت‌های میزبان به سر می‌برند، ژن‌های متنوعی را بیان می‌کنند که محصولات این ژن‌ها به آن‌ها در تطبیق با شرایط سخت داخل سلولی از جمله pH، کمبود مواد غذایی، واسطه‌های فعال اکسیژن (ROIs) و نیز واسطه‌های فعال نیتروژن (RNIs) کمک می‌کنند.

فعال می‌شود، ۳) مسیر لکتین که به وسیله‌ی اتصال لکتین متصل شونده به مانوز به کربوهیدرات‌های سطح میکروب فعال می‌شود.

به دلیل این که جزء اصلی سطح بروسلا یک LPS است، واکنش میان بروسلا و اجزای کمپلمان به وسیله‌ی این مولکول‌ها صورت می‌گیرد. اغلب، سویه‌های صاف بروسلا آبورتوس بسیار مقاوم‌تر از سویه‌های خشن فاقد پلی ساکارید O (OPS) در واکنش به فعالیت باکتری‌سیدال سرم هستند (۳۸-۳۹).

LPS به دست آمده از بروسلا آبورتوس، مسیر جایگزین را فعال نمی‌کند (۴۰)؛ بنابراین فعال شدن مسیر کلاسیک به وسیله‌ی IgM (Immunoglobulin M) و غلظت‌های پایین IgG (Immunoglobulin G) صورت می‌گیرد. این محمول‌ترین واکنش باکتری‌سیدال سرم علیه بروسلا آبورتوس است که در مراحل اولیه‌ی عفونت صورت می‌گیرد. نتایج یافته‌های اخیر با استفاده از موتان‌های Vbo بروسلا در تنسیس و بروسلا آبورتوس فاقد OPS نشان داده‌اند این است که هر دو مسیر کلاسیک و مسیر وابسته به لکتین، در نشستن اجزای کمپلمان بر روی دیواره‌ی سلولی و در نتیجه کشتن باکتری نقش بازی می‌کنند (۴۱).

با این وجود، میزان افزایش یافته‌ی آنتی‌بادی‌های IgG₁ و IgG_{2a} در مراحل نهایی عفونت بروسلا در گاوها، از کشتن بروسلا در خارج سلول حتی اگر اپسونیزاسیون نیز رخ داده باشد، جلوگیری می‌کند (۳۹). این نقش دوگانه برای آنتی‌بادی و کمپلمان در واکنش سیستم ایمنی علیه بروسلا به واسطه‌ی اثر پرورون توصیف شده است (۴۰).

سویه‌های بروسلا آبورتوس دارای موتاسیون در ژن بیان‌کننده‌ی این پروتئین (hfq)، به H₂O₂ استرس اسید در مرحله‌ی سکون حساس است و از این رو، در ماکروفازهای صفاقی موش BalB/c توانایی تکثیر ندارند. به همین دلیل، پیشنهاد شده است چاپرون‌هایی مانند HF1 در بیماری‌زایی بروسلا نقش داشته باشند (۳۷).

واکنش سیستم ایمنی به بروسلا

- ایمنی ذاتی

ایمنی ذاتی از واکنش‌های ایمنی غیر اختصاصی در مراحل اولیه‌ی عفونت قبل از ایمنی اکتسابی به پاتوژن پاسخ می‌دهد. بنابراین نفس اصلی ایمنی ذاتی در بدن میزبان، کاهش تعداد باکتری‌ها و عفونی بدون ایجاد هیچ نوع حافظه‌ای است؛ همچنین ایمنی ذاتی برای ایجاد واکنش‌های ایمنی اکتسابی از نوع T helper₁ (T helper₁) در میزبان را فراهم می‌کند.

الف - کمپلمان

کمپلمان سیستمی متشکل از پروتئین‌های پلاسمایی است که یا به آنتی‌بادی‌ها متصل می‌شوند و یا با سطح دیواره‌ی باکتری کمپلکس تشکیل می‌دهند و از این طریق، به منظور اپسونیزاسیون (Opsonization) و یا کشتن مستقیم پاتوژن‌ها به وسیله‌ی تشکیل کمپلکس حمله‌کننده به غشای باکتری‌های گرم منفی عمل می‌کنند (۳۷).

امروزه ۳ مسیر از فعالیت کمپلمان تشریح شده است. ۱) مسیر کلاسیک که به وسیله‌ی واکنش آنتی‌بادی-آنتی‌ژن فعال می‌شود، ۲) مسیر دیگر که به وسیله‌ی ساختارهای ویژه‌ای بر روی سطح میکروارگانیسم‌ها در یک مسیر مستقل از آنتی‌بادی

ب- نوتروفیل‌ها

نوتروفیل‌ها سلول‌هایی با نیمه‌ی عمر کوتاه هستند که ۵۰-۷۰ درصد سلول‌های خون انسان را تشکیل می‌دهند. کارکرد این سلول‌ها، بیگانه‌خواری (Phagocytosis) می‌باشد. بنابراین نوتروفیل‌ها اغلب، اولین سلول‌های سیستم ایمنی در بدن انسان در مواجهه با باکتری بروسلا هستند. بیگانه‌خواری سویه‌های بروسلا تحریف حدت می‌یابد و بیماری‌زایی به وسیله‌ی نوتروفیل‌ها فقط زمانی رخ می‌دهد که اپسونیزاسیون با سیستم طبیعی انسان انجام شده باشد (۴۲).

این موضوع نشان دهنده‌ی این است که اپسونیزاسیون پیش نیاز بیگانه‌خواری است. با این وجود، بقای بروسلا در نوتروفیل‌ها طی عفونت اولیه مشاهده شده است (۴۳).

ج- سلول‌های NK

این سلول‌ها گروه کوچکی از لنفوسیت‌های خونی هستند که فاقد مولکول‌های غشایی سلول‌های T و نشانگرهای سطحی سلول‌های B می‌باشند. این سلول‌ها، آنتی‌بادی نیز نمی‌سازند و با توجه به این که فاقد گیرنده‌ی شناسایی آنتی‌ژن هستند، فاقد ویژگی و خاطره می‌باشند. این‌ها ۵-۱۰ درصد لنفوسیت‌های خون محیطی انسان را تشکیل می‌دهند. سیتوتوکسیتی سلول‌های NK (Natural killer cells) انسانی در صورت تحریک توسط اینترلوکین ۱۲، افزایش می‌یابد (۴۴). این موضوع بیان‌گر آن است که سلول‌های NK نقش اساسی در حفاظت علیه بروسلازیس بازی می‌کند. اما در نهایت، اعتقاد بر این است که نقش این سلول‌ها در مقابله با عفونت بروسلاز در موش‌ها کم است (۴۵).

د- ماکروفاژها

فعالیت‌های باکتری‌کشی ماکروفاژها شامل واسطه‌های فعال اکسیژن و واسطه‌های فعال نیتروژن است که به وسیله‌ی γ -IFN (Interferon gamma) و α -TNF (Tumor necrosis factor alpha) تحریک می‌شود. نشان داده شده است که واسطه‌های فعال اکسیژن نقش مهم‌تری در کشتن باکتری داخل ماکروفاژ نسبت به واسطه‌های فعال نیتروژن در شرایط آزمایشگاهی بازی می‌کنند (۴۶). علاوه بر این، ذخیره‌ی آهن ماکروفاژها که به وسیله‌ی γ -IFN فعال می‌شوند، دارای توانایی بیشتری برای کشتن بروسلا داخل سلولی است (۴۷). همچنین نقش واسطه‌های فعال نیتروژن و واسطه‌های فعال اکسیژن در کنترل عفونت بروسلا در مراحل اولیه‌ی عفونت ثابت شده است (۴۸).

- ایمنی اکتسابی

واکنش ایمنی اکتسابی برای ایجاد حافظه، که یک نقش حیاتی در واکنش‌های دفاعی دارد، بسیار مهم است. عملکرد واکنش ایمنی اکتسابی در بروسلازیس می‌تواند به سیستم تقسیم‌بندی شود: ۱- γ -IFN تولید شده به وسیله‌ی سلول‌های $CD4^+$ ، $CD4^+$ و سلول‌های δ T می‌تواند فعالیت باکتری‌کشی در ماکروفاژها را به منظور جلوگیری از بقای داخل سلولی بروسلا فعال کند، ۲- سیتوتوکسی سیتی سلول‌های $CD4^+$ T و δ T ماکروفاژهای عفونی شده را افزایش می‌دهد و ۳- ایزوتایپ‌های آنتی‌بادی از قبیل $IgG3$ و $IgG2a$ پاتوژن‌ها را به منظور تسهیل بیگانه‌خواری، اپسونیزه می‌کنند.

الف- سلول‌های $CD4^+$ و $\alpha\beta CD4^+$ T

نقش اصلی سلول‌های T در ایمنی‌زایی علیه

کنترل می‌کنند (۵۳).

ج- سلول‌های B

بسیاری از ایمونیزاسیون‌های پاسیو با استفاده از سرم، بر اهمیت ایمنی هومورال علیه بروسلوزیس صحه گذاشته‌اند. به طور مثال، انتقال سرم‌های حاوی آنتی‌بادی علیه LPS به موش، موش را در مقابل عفونت با سوش بروسلا آبورتوس محافظت می‌کند (۵۴). انتقال پاسیو مونوکلونال آنتی‌بادی IgG_{2a} علیه پلی ساکارید O، می‌تواند موش را در مقابل عفونت بروسلا آبورتوس محافظت کند (۵۵).

IgG_{2a} و IgG₃ ایزوتایپ‌های اصلی آنتی‌بادی‌هایی هستند که در موش آلوده شده به عفونت بروسلا شناسایی شده‌اند؛ این امر نشان دهنده‌ی واکنش ایمنی از نوع Th₁ علیه عفونت بروسلا است (۵۶).

احتمال می‌رود اپسونیزاسیون با افزایش کشتن داخل سلولی باکتری همراه باشد که به عنوان نقش اصلی آنتی‌بادی‌ها علیه عفونت بروسلا در نظر گرفته می‌شود. بر اساس گزارش‌های متعدد از نقش ایمنی هومورال مقاومت به بروسلوزیس، توانایی آنتی‌بادی در حفظ کردن مریبان در مقابل عفونت بروسلا بحث برانگیز به نظر می‌رسد. برای مثال، بروسلا آبورتوس RB51 فاقد پلی ساکارید O، هنوز هم بهترین حفاظت را به عنوان سوش واکسن در میزان ایجاد می‌کند که این امر بی‌اگر آن است که حفاظت سیستم ایمنی بدون آنتی‌بادی علیه پلی ساکارید O امکان پذیر است (۵۷).

همچنین در بروسلوزیس گاوی، غلظت بالای IgG طی عفونت فعال، از لیز باکتری خارج سلولی به واسطه‌ی کمپلمان جلوگیری می‌کند و باعث

بروسلا، ترشح INF- γ به منظور فعال کردن واکنش باکتری‌کشی در ماکروفاژها و نیز فعالیت لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک است. علاوه بر نقش‌های گفته شده، این سلول‌ها در تغییر IgG (Switching) به ایزوتایپ‌های IgG_{2a} و IgG₃ نیز نقش دارند. اهمیت سلول‌های T CD₄⁺ و CD₈⁺ در ایمنی علیه بروسلا بحث برانگیز است. تزریق جمعیت سلول‌های T CD₄⁺ و CD₈⁺ از یک موش ایمن شده به یک موش غیر ایمن، باعث شد این موش توانایی بیشتری در مقاومت در مقابل عفونت بروسلا در مقایسه با یک موش ایمن نشده نشان دهد (۴۹). اهمیت IFN- γ در پاک‌سازی عفونت بروسلا نیز نشان داده شده است (۵۰). با این وجود از نظر تعداد، سلول‌های T CD₄⁺ بیشترین جمعیت سلول‌های T را دارا می‌باشند و این جمعیت، تولید کننده‌ی اصلی IFN- γ است. بنابراین سلول‌های CD₄⁺ دارای نقش مهمی در مقابل بروسلوزیس است (۵۰).

از طرف دیگر، آزمایش‌های انجام شده بر روی موش‌های فاقد (Major histocompatibility complex) MHC کلاس ۲، نشان داده است که در این موش‌ها تولید سایتوکین‌هایی از قبیل IFN- γ و اینترلوکین ۲ به وسیله‌ی سلول‌های T CD₈⁺ انجام می‌شوند. از این رو، تصور بر این است که سلول‌های T CD₈⁺ نیز نقش بسیار مهمی در ایمنی علیه بروسلا دارند (۵۱).

ب- سلول‌های T $\gamma\delta$

بیماران آلوده شده با بروسلا ملی تنسیس حاوی تعداد زیادی از سلول‌های T $\gamma\delta$ می‌باشند (۵۲). این سلول‌های T به وسیله‌ی آنتی‌ژن‌های غیر پروتئینی فعال می‌شوند و افزایش تعداد ارگانیزم‌های بروسلای داخل سلولی را به وسیله‌ی ترشح IFN- γ و TNF- α

بروسلایی دیده شده است (۶۲). در مطالعه‌ای بر نقش اینترلوکین ۱۷ نیز در حفاظت ایجاد شده در واکسیناسیون خوراکی با RB۵۱ اشاره شده است؛ اما مطالعات بیشتری به منظور شناسایی اهمیت این سایتوکین که از سلول‌های Th۱۷ ترشح می‌شود، لازم به نظر می‌رسد (۶۳).

گذشته از این، اهمیت اینترلوکین ۱ و G-CSF (Granulocyte colony-stimulating factor) نیز در ایجاد فعالیت باکتری‌کشی علیه بروسلا نشان داده شده است (۶۴).

واکسن

الف- واکسن‌های زنده‌ی ضعیف شده

واکسن زنده‌ی ضعیف شده‌ی بروسلا آبورتوش S۱۹ که به طور ذاتی سویه‌ای موتان است، در سال ۱۹۲۳ کشف شد. این سویه دارای بخشی حذف شده (۱۰۲ bp) در ژن کد کننده‌ی پروتئین کاتالیز کننده‌ی اریترول است که یک خصوصیت حساسیت به اریترول به این سویه می‌دهد (۶۵). S۱۹ به طور گسترده‌ای برای جلوگیری از بروسلوزیس برای بیش از ۵۰ سال مورد استفاده قرار گرفته است. اما به دلیل مشکلاتی از قبیل تحریک سقط جنین در حیوانات حامله‌ی دریافت کننده‌ی S۱۹، تحریک تولید آنتی‌بادی‌هایی که در تشخیص، مشکل ایجاد می‌کند و بیماری‌زا بودن در انسان، استفاده از این واکسن محدود شده است (۶۶).

امروزه به دلیل استفاده‌ی بیشتر از واکسن RB۵۱، استفاده از S۱۹ روز به روز محدودتر می‌شود. با وجود این موضوع، این واکسن امروزه در کشورهای مانند هند، ایران و آرژانتین مورد استفاده قرار می‌گیرد (۶۷).

افزایش بیگانه‌خواری باکتریایی و در نتیجه پنهان شدن باکتری در داخل سلول و ایجاد بیماری بلند مدت می‌شود (۵۸).

د- سایتوکین‌ها

سایتوکین‌ها، پلی پپتیدهایی هستند که در پاسخ به میکروب‌ها و سایر آنتی‌ژن‌ها تولید می‌شوند و واسطه‌ی تنظیم واکنش‌های ایمنی و التهابی هستند. سیتوکاین‌ها دو نقش ضروری در واکنش‌های ایمنی بازی می‌کنند: تحریک سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی و نیز هدایت سلول‌های سیستم ایمنی در واکنش‌ها.

سایتوکین‌هایی که به عنوان باز بگران کلیدی در بروسلوزیس نقش بازی می‌کنند، شامل اینترلوکین ۱۲، IFN- γ و TNF- α هستند. اینترلوکین ۱۲ سایتوکین کلیدی تولید شده به وسیله سلول‌های B و ماکروفاژها هستند و منجر به واکنش‌های ایمنی Th۱ در میزبان می‌شود که سرانجام با ترشح IFN- γ از سلول‌های T ادامه می‌یابد. اهمیت اینترلوکین ۱۲ در بروسلوزیس به خوبی توصیف شده است (۵۹). با این وجود، مکانیسم تحریک اینترلوکین ۱۲ تشریح نگردیده است. سلول‌های T از نوع Th۱، IFN- γ را تولید می‌کنند که عملکرد باکتری‌کشی ماکروفاژهای میزبان بروسلا را فعال‌تر می‌کند. این عمل بیگانه‌خواری می‌تواند به وسیله‌ی اضافه کردن TNF- α تشدید شود (۶۰).

در واقع، بروسلا سویس زنده می‌تواند از تولید TNF- α در ماکروفاژهای انسانی جلوگیری کند که این نشان دهنده‌ی استراتژی دیگری از بروسلا به منظور بقای داخل سلولی است (۶۱). افزایش در سطح اینترلوکین ۶ در سرم انسان‌های آلوده شده با بروسلا و موش‌های آلوده شده با آنتی‌ژن‌های

ب- واکنش‌های تحت واحد

مقایسه‌ی واکنش‌های تحت واحد (Subunit) با واکنش‌های DNA ای و واکنش حاصل از بروسلای تخفیف حدت یافته (که همه اجزای ایمونوژنیک را دارا است)، نشان می‌دهد که واکنش‌های تخفیف حدت یافته در حفاظت علیه عفونت نقش کاملی بازی می‌کند. از این رو، این نوع از واکنش بسیار مؤثر شناخته شده است؛ اما این نوع واکنش‌ها هم مشکلات خاص خود را دارند که می‌توان به مواردی مانند بیماری‌زا بودن در انسان، مقاومت به آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین در بعضی سویه‌ها، تحریک سقط جنین در حیوانات باردار در هنگام تزریق و امکان ایجاد موتاسیون برگشت پذیر و یافتن قدرت بیماری‌زایی اشاره کرد (۷۷-۷۴). از این رو، تلاش برای یافتن راه حل‌های جایگزین مانند واکنش‌های DNA ای و زیر واحد، منطقی به نظر می‌رسد.

امروز بسیاری از آنتی‌ژن‌هایی که توسط سلول‌های T در شناسایی می‌شوند، مشخص شده‌اند. آنتی‌ژن‌های قابل شناسایی به وسیله‌ی سلول‌های B (جدول ۱) به عنوان نشانگرهای شناسایی و تشخیص مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

آنتی‌بادی‌های تولید شده علیه این آنتی‌ژن‌ها، در اپسونیواسیون در میزبان هم نقش دارند. آنتی‌ژن‌های قابل شناسایی به وسیله‌ی سلول‌های T (جدول ۲) که به وسیله‌ی واکنش تکثیر سلول‌های لنفوسیت مشخص شده‌اند، آنتی‌ژن‌های مختص سلول‌های T^+4 یا CD هستند که بر روی گیرنده‌های سلول T (TCR) یا T cells receptor از طریق MHC کلاس ۲ عرضه می‌شوند.

در سال ۱۹۹۶ به دلیل مشکلات حاصل از کاربرد S1۹، بروسلا آبورتوس RB5۱ به عنوان جایگزینی مؤثر برای S1۹ مورد توجه قرار گرفت. سویه‌ی موتان خشن حاصل از سویه‌ی صاف بروسلا آبورتوس ۲۳۰۸ می‌باشد. بر خلاف S1۹، RB5۱ واکنش‌های آنتی‌بادی‌های مداخله‌کننده در تشخیص ضد LPS را بر نمی‌انگیزد و این امر، باعث به کارگیری روش‌های مرسوم سرولوژیکی برای تشخیص بروسلوزیس در گاو شده است (۶۸). اما نشان داده شده است که امکان سقط در میان گوسفندان ایمن شده با این واکنش وقتی با بروسلا ملی تنسیس آلوده شدند، وجود دارد (۶۹).

سویه‌ی بروسلا ملی تنسیس Rev ۱ ابتدا از بروسلا ملی تنسیس ۶۰۵۶ در سال ۱۹۵۷ به وسیله‌ی پاساژهای متوالی بر روی محیط استرپتومایسین به دست آمد. تزریق این واکنش به بز، ایمنی بسیار خوبی در بز علیه بروسلوزیس ایجاد می‌کند؛ اما مشکلاتی که برای S1۹ ذکر شد، برای این واکنش هم وجود دارد. همچنین، این واکنش به استرپتومایسین مقاوم است و استفاده از آنتی‌بیوتیک برای درمان بروسلوزیس را با محدودیت روبه‌رو می‌کند (۶۷). از این رو، درکشورهایی که به نوعی بروسلوزیس در میان حیوانات ریشه کن شده است، استفاده از این واکنش ممنوع اعلام گردیده است (۷۰).

سویه‌های موتان جدیدی از بروسلا آبورتوس و بروسلا ملی تنسیس امروزه به عنوان واکنش زنده‌ی تخفیف حدت یافته معرفی شده است (۷۳-۷۱، ۶۷-۶۶)؛ اما کارهای زیادی باید صورت گیرد که این سویه‌های موتان جدید به عنوان واکنشی مؤثر و بی‌خطر برای حیوانات معرفی شوند.

جدول ۱. آنتی‌ژن‌های مورد شناسایی توسط سلول‌های B

آنتی‌ژن	عملکرد	گونه	حفاظت	منبع
Omp19	پروتئین غشای بیرونی	<i>Brucella abortus</i>	مشخص نشده	(۸۱)
Omp25	پروتئین غشای بیرونی	<i>Brucella ovis</i>	دارد	(۸۲)
Omp28	پروتئین غشای بیرونی	<i>Brucella melitensis</i>	مشخص نشده	(۸۳)
Omp31	پروتئین غشای بیرونی	<i>Brucella ovis</i>	دارد	(۸۴)
Omp89	پروتئین غشای بیرونی	<i>Brucella abortus</i>	مشخص نشده	(۸۵)
CP24	فاکتور آزاد کننده‌ی ریبوزوم	<i>Brucella melitensis</i>	مشخص نشده	(۸۶)
HtrA	پروتئین شوک حرارتی	<i>Brucella abortus</i>	مشخص نشده	(۸۷)
۱۸-kDa protein	لومازین سنتتاز	<i>Brucella melitensis</i>	مشخص نشده	(۸۸)
BCSP31	نامشخص	<i>Brucella melitensis</i>	مشخص نشده	(۸۹)
DnaK	پروتئین شوک حرارتی	<i>Brucella abortus</i>	همراه ادجوانت فروند دارد	(۱)
BP26	پروتئین سیتوپلاسمی	<i>Brucella melitensis</i>	مشخص نشده	(۹۱)
۱۷-kDa protein	نامشخص	<i>Brucella melitensis</i>	مشخص نشده	(۹۲)
۲۲/۹-kDa protein	نامشخص	<i>Brucella abortus</i>	دارد	(۹۳)
۳۲/۲-kDa protein	نامشخص	<i>Brucella abortus</i>	مشخص نشده	(۹۳)
۲۰-kDa protein	نامشخص	<i>Brucella melitensis</i>	مشخص نشده	(۹۴)
Dihydrolipoamide succinyltransferase	پروتئین سیتوپلاسمی	<i>Brucella ovis</i>	مشخص نشده	(۹۰)
۳۱-kDa protein	نامشخص	<i>Brucella ovis</i>	مشخص نشده	(۹۰)
Malate dehydrogenase	پروتئین سیتوپلاسمی	<i>Brucella ovis</i>	مشخص نشده	(۹۰)
Succinyl coenzyme A	پروتئین سیتوپلاسمی	<i>Brucella ovis</i>	مشخص نشده	(۹۰)
ABCa-type transporter	پروتئین سیتوپلاسمی	<i>Brucella ovis</i>	مشخص نشده	(۹۰)
Leu/Ile/Val-bindingprotein precursor	پروتئین سیتوپلاسمی	<i>Brucella ovis</i>	مشخص نشده	(۹۰)
ClpP	پروتئین شوک حرارتی	<i>Brucella ovis</i>	مشخص نشده	(۹۰)
NikA	پروتئین سیتوپلاسمی	<i>Brucella ovis</i>	مشخص نشده	(۹۰)

این سلول‌های TCD⁺ فعال شده، میزان قابل ملاحظه‌ای از IFN- γ را تولید می‌کنند. با این وجود، نشان داده شده است که آنتی‌ژن‌هایی که بر روی سلول‌های MHC کلاس ۱ عرضه می‌شوند نیز با سلول‌های سیستم ایمنی واکنش می‌دهند (۷۸، ۵۱).

نتیجه‌گیری

با توجه به شیوع اندمیک بیماری بروسلوز در مناطق خاورمیانه به خصوص ایران و به دلیل عواقب اقتصادی که در صنعت دامپروری ایجاد می‌کند و

همچنین بیماری وحشی که در انسان به وجود می‌آورد، نیازمند توجه بسیاری است. درک ما از چگونگی بیماری‌زایی باکتری مولد بروسلوز می‌تواند قدم اول در حذف این بیماری می‌باشد. امروزه روش‌های زیادی به منظور شناسایی عوامل دخیل در بیماری‌زایی بروسلا استفاده می‌شود که از جمله‌ی آن می‌توان ایجاد موتاسیون‌های خاص در ژن‌های خاص و بررسی میزان بیماری‌زایی این سویه‌های موتانت نسبت به سویه‌های وحشی و همچنین استفاده از روش‌هایی بر مبنای پروتئومیکس را نام برد. در روش اخیر، واکنش باکتری

جدول ۲. آنتی‌ژن‌های مورد شناسایی توسط سلول‌های T

منبع	حفاظت	گونه	عملکرد	آنتی‌ژن
(۹۵)	همراه CpG دارد	<i>Brucella melitensis</i>	پروتئین پری‌پلاسمی	P۳۹
(۹۶)	همراه CpG دارد	<i>Brucella melitensis</i>	پروتئین متصل‌شونده به آهن	Bacterioferritin
(۹۷)	مشخص نشده	<i>Brucella abortus</i>	پروتئین شوک حرارتی	GroEL
(۹۷)	مشخص نشده	<i>Brucella abortus</i>	پروتئین شوک حرارتی	GroES
(۹۸)	مشخص نشده	<i>Brucella abortus</i>	پروتئین سیتوپلاسمی	YajC
(۹۷)	مشخص نشده	<i>Brucella abortus</i>	پروتئین سیتوپلاسمی	UvrA
(۹۷)	همراه ادجوانت فروند دارد	<i>Brucella abortus</i>	پروتئین سیتوپلاسمی	Lv/L۱۲
(۹۹)	مشخص نشده	<i>Brucella abortus</i>	نامشخص	BA۱۴K
(۱۰۰)	دارد	<i>Brucella abortus</i>	پروتئین سیتوپلاسمی	SOD
(۱۰۱)	مشخص نشده	<i>Brucella abortus</i>	نامشخص	۳۱ kDa
(۱۰۲-۱۰۳)	همراه ادجوانت فروند دارد	<i>Brucella melitensis</i>	پروتئین سیتوپلاسمی	BLS
(۱۰۴)	همراه ادجوانت فروند دارد	<i>Brucella melitensis</i>	مشخص	Bp۲۶
(۱۰۵)	همراه ادجوانت فروند دارد	<i>Brucella abortus</i>	چاپرون	DnaK
(۱۰۵)	همراه ادجوانت فروند دارد	<i>Brucella abortus</i>	پروتئین سیتوپلاسمی	SurA
(۱۰۴)	همراه ادجوانت فروند دارد	<i>Brucella melitensis</i>	پروتئین سیتوپلاسمی	Tig
(۸۰)	همراه ادجوانت فروند دارد	<i>Brucella melitensis</i>	پروتئین سیتوپلاسمی	AdoHcyase
(۱۰۶)	همراه ادجوانت فروند دارد	<i>Brucella melitensis</i>	پروتئین سیتوپلاسمی	RS- α
(۱۰۶)	همراه ادجوانت فروند دارد	<i>Brucella melitensis</i>	پروتئین سیتوپلاسمی	LS-۲
(۱۰۷)	همراه ادجوانت فروند دارد	<i>Brucella melitensis</i>	پروتئین شوک حرارتی	HspA
(۱۰۸)	همراه ادجوانت فروند دارد	<i>Brucella abortus</i>	پروتئین‌های ریبوزومی	ribosomal protein LA
(۱۰۹)	همراه ادجوانت فروند دارد	<i>Brucella melitensis</i>	پروتئین کایمریک	BLSOmp۳۱
(۱۱۰)	همراه ادجوانت فروند دارد	<i>Brucella abortus</i>	پروتئین فلاژی	FlgJ and FlhN
(۱۱۱)	همراه ادجوانت فروند دارد	<i>Brucella abortus</i>	پروتئین حرارتی	CobB
(۱۱۱)	همراه ادجوانت فروند دارد	<i>Brucella abortus</i>	پروتئین حرارتی	AsnC
(۱۱۲)	همراه ادجوانت فروند دارد	<i>Brucella melitensis</i>	چاپرون	DnaK

خواندن باز (Open reading frame) است که با استفاده از اطلاعات به دست آمده از تعیین توالی تمام ژنوم بروسلا امکان پذیر شده است (۷۹-۸۰).

واکسیناسون، دومین راهبردی است که می‌تواند در ریشه‌کنی بروسلا بسیار مؤثر باشد. سوش‌های زنده‌ی تخفیف حدت یافته از دو باکتری بروسلا ملی تنسیس و بروسلا آبورتوس بسیار مورد استفاده قرار گرفته است؛ اما بر خلاف کارایی خوب، مشکلاتی برای

در موقعی که در شرایط داخل سلول قرار دارد، مورد بررسی قرار می‌گیرد و پروتئین‌ها و آنزیم‌هایی که در این شرایط ترشح می‌شوند، شناسایی می‌گردند که می‌تواند در درک ما از چگونگی بیماری‌زایی این باکتری بسیار کمک کننده باشد. روش‌های مورد استفاده در پروتئومیکس متنوع است؛ اما دو روشی که امروزه بسیار مورد استفاده قرار گرفته است، شامل روش الکتروفورز دو بعدی و بیان تمام قالب‌های

واکسن‌های تحت واحد در حال انجام است که در بالا به آن‌ها اشاره شده است. ناگفته پیداست که شناسایی آنتی‌ژن‌های مؤثرتر، بدون فهم کامل ما از بیماری‌زایی بروسلا به دست نخواهد آمد. از این رو، تلاش‌های بیشتری باید در راستای شناختن عوامل مؤثر در بیماری‌زایی بروسلا با استفاده از روش‌های میکروبی‌شناسی، بیوتکنولوژی و ایمنی‌شناسی صورت گیرد.

آن‌ها توصیف شده است. از جمله‌ی این مشکلات، عدم امکان استفاده از این واکسن‌ها در انسان و همچنین حیوان باردار است. تداخل در تشخیص به علت تحریک ترشح آنتی‌بادی‌های تداخل‌کننده در آزمایش‌های سروزولوژی تشخیص بروسلا نیز از مشکلات این واکسن‌ها بر شمرده شده است.

از این رو، تلاش‌هایی به منظور شناسایی آنتی‌ژن‌های پروتئینی ایمنی‌زا به منظور ساخت

References

1. Van der Henst C, de BM, Zorreguieta A, Letesson JJ, De B, X. The Brucella pathogens are polarized bacteria. *Microbes Infect* 2013; 15(14-15): 998-1004.
2. Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. *N Engl J Med* 2005; 352(22): 2325-36.
3. Olsen SC. Recent developments in livestock and wildlife brucellosis vaccination. *Rev Sci Tech* 2013; 32(1): 207-17.
4. Avila-Calderon ED, Lopez-Merino A, Sriranganathan N, Boyle SM, Contreras-Rodriguez A. A history of the development of Brucella vaccines. *Biomed Res Int* 2013; 2(13): 743509.
5. Seleem MN, Boyle SM, Sriranganathan N. Brucella: a pathogen without classical virulence genes. *Vet Microbiol* 2008; 129(1-2): 1-14.
6. Ko J, Splitter GA. Molecular host-pathogen interaction in brucellosis: current understanding and future approaches to vaccine development for mice and humans. *Cell Microbiol Rev* 2003; 16(1): 65-78.
7. Corbel MJ. Brucellosis: an overview. *Emerg Infect Dis* 1997; 3(2): 213-21.
8. Robinson-Dunn B. The microbiology laboratory's role in response to bioterrorism. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126(3): 291-4.
9. Gorvel JP, Moreno E. Brucella intracellular life: from invasion to intracellular replication. *Vet Microbiol* 2002; 90(1-4): 281-97.
10. Naroeni A, Porte F. Role of cholesterol and the ganglioside GM(1) in entry and short-term survival of Brucella suis in murine macrophages. *Infect Immun* 2002; 70(3): 1640-4.
11. Watarai M, Makino S, Fujii Y, Okamoto K, Shirahata T. Modulation of Brucella-induced macropinocytosis by lipid rafts mediates intracellular replication. *Cell Microbiol* 2002; 4(6): 341-50.
12. Fontes J, Alvarez-Martinez MT, Gross A, Carnaud C, Kohler S, Liautard JP. Absence of evidence for the participation of the macrophage cellular adhesion protein in infection with Brucella suis. *Infect Immun* 2005; 73(10): 6229-36.
13. Saleghifard N, Aslani mm, Ghasemi A. Comparison of different laboratory methods for diagnosis of Helicobacter pylori. *Journal of Biological Sciences* 2006; 6(6): 1146-9.
14. Kim S, Watarai M, Makino S, Shirahata T. Membrane sorting during swimming internalization of Brucella is required for phagosome trafficking decisions. *Microb Pathog* 2002; 33(5): 225-37.
15. Shirazi MH, Sadeghifard N, Ranjbar R, Daneshyar E, Ghasemi A. Incidence of asymptomatic bacteriuria during pregnancy. *Pak J Biol Sci* 2006; 9(1): 151-4.
16. Chaves-Olarte E, Guzman-Verri C, Meresse S, Desjardins M, Pizarro-Cerda J, Badilla J, et al. Activation of Rho and Rab GTPases dissociates Brucella abortus internalization from intracellular trafficking. *Cell Microbiol* 2002; 4(10): 663-76.
17. Celli J, de CC, Franchini DM, Pizarro-Cerda J, Moreno E, Gorvel JP. Brucella evades macrophage killing via VirB-dependent sustained interactions with the endoplasmic reticulum. *J Exp Med* 2003; 198(4): 545-56.
18. Porte F, Naroeni A, Ouahrani-Bettache S, Liautard JP. Role of the Brucella suis lipopolysaccharide O antigen in phagosomal genesis and in inhibition of phagosome-lysosome fusion in murine macrophages. *Infect Immun* 2003; 71(3): 1481-90.

19. Arellano-Reynoso B, Lapaque N, Salcedo S, Briones G, Ciocchini AE, Ugalde R, et al. Cyclic beta-1,2-glucan is a *Brucella* virulence factor required for intracellular survival. *Nat Immunol* 2005; 6(6): 618-25.
20. Bohin JP. Osmoregulated periplasmic glucans in Proteobacteria. *FEMS Microbiol Lett* 2000; 186(1): 11-9.
21. Bhagwat AA, Mithofer A, Pfeffer PE, Kraus C, Spickers N, Hotchkiss A, et al. Further studies of the role of cyclic beta-glucans in symbiosis. An NdvC mutant of *Bradyrhizobium japonicum* synthesizes cyclodecakis-(1->3)-beta-glucosyl. *Plant Physiol* 1999; 119(3): 1057-64.
22. Briones G, Inon d, I, Roset M, Vigliocco A, Paulo PS, Ugalde RA. *Brucella abortus* cyclic beta-1,2-glucan mutants have reduced virulence in mice and are defective in intracellular replication in HeLa cells. *Infect Immun* 2001; 69(7): 4528-35.
23. Dermine JF, Duclos S, Garin J, St-Louis F, Rea S, Parton RG, et al. Flotillin-1-enriched lipid raft domains accumulate on maturing phagosomes. *J Biol Chem* 2001; 276(21): 18507-12.
24. Haag AF, Myka KK, Arnold MF, Caro-Hernandez P, Ferguson GP. Importance of Lipopolysaccharide and Cyclic beta-1,2-Glucans in *Brucella*-Mammalian Infections. *Int J Microbiol* 2010; 2010: 124509.
25. Pizarro-Cerda J, Meresse S, Parton RG, van der Goot G, Sola-Landa A, Lopez-Goni I, et al. *Brucella abortus* transits through the autophagic pathway and replicates in the endoplasmic reticulum of nonprofessional phagocytes. *Infect Immun* 1998; 66(12): 5711-24.
26. Porte F, Liautard JP, Kohler S. Early acidification of phagosomes containing *Brucella suis* is essential for intracellular survival in murine macrophages. *Infect Immun* 1999; 67(8): 4041-7.
27. Boschirolu ML, Ouahrani-Bettache S, Foulongne V, Michaux-Charachon S, Bourg G, Allardet-Servent A, et al. The *Brucella suis* virB operon is induced intracellularly in macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99(3): 1544-9.
28. Sieira R, Comerchi DJ, Sanchez DO, Ugalde RA. A homologue of an operon required for DNA transfer in *Agrobacterium* is required in *Brucella abortus* for virulence and intracellular multiplication. *J Bacteriol* 2000; 182(17): 4849-55.
29. Comerchi DJ, Martinez-Lorenzo MJ, Sieira R, Gorvel JP, Ugalde RA. Essential role of the VirB machinery in the maturation of the *Brucella abortus*-containing vacuole. *Cell Microbiol* 2001; 3(3): 159-68.
30. Celli J. Surviving inside a macrophage: the many ways of *Brucella*. *Res Microbiol* 2006; 157(2): 93-8.
31. Ghasemi A, Salari MH, Zarnani AH, Pourmand MR, Ahmadi H, Shirazi MH, et al. Immunogenicity assessment of *Brucella melitensis* HSP and TF proteins by immunized rabbit serum. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2013; 12(2): 192-4.
32. Baldwin CL, Winter AJ. Macrophages and *Brucella*. *Immunol Ser* 1994; 60: 363-80.
33. Lin J, Ficht TA. Protein synthesis in *Brucella abortus* induced during macrophage infection. *Infect Immun* 1995; 63(4): 1409-14.
34. Kohler S, Teyssier J, Cloeckeaert A, Rouot B, Liautard JP. Participation of the molecular chaperone DnaK in intracellular growth of *Brucella suis* within U937-derived phagocytes. *Mol Microbiol* 1996; 20(4): 701-12.
35. Edmonds M, Pooler N, Hagius S, Walker J, Enright F, Roop RM, et al. Attenuation and immunogenicity of a *Brucella abortus* htrA cyclic double mutant in cattle. *Vet Microbiol* 2006; 106(1): 81-90.
36. Huffer A, Fischer D, Hengge-Aronis R. The RNA-binding protein HF-I, known as a host factor for phage Qbeta RNA replication, is essential for rpoS translation in *Escherichia coli*. *Genes Dev* 1996; 10(9): 1143-51.
37. Robertson GT, Roop RM, Jr. The *Brucella abortus* host factor I (HF-I) protein contributes to stress resistance during stationary phase and is a major determinant of virulence in mice. *Mol Microbiol* 1999; 34(4): 690-700.
38. Ghasemi A, Salari MH, Pourmand MR, Zarnani AH, Ahmadi H, Shirazi MH, et al. Optimization and efficient purification in production of *Brucella melitensis* recombinant HSP A and TF proteins with low endotoxin contents. *Jundishapur J Microbiol* 2013; 6(7): e6875.
39. Corbeil LB, Blau K, Inzana TJ, Nielsen KH, Jacobson RH, Corbeil RR, et al. Killing of *Brucella abortus* by bovine serum. *Infect Immun* 1988; 56(12): 3251-61.
40. Hoffmann EM, Houle JJ. Failure of *Brucella abortus* lipopolysaccharide (LPS) to activate the alternative pathway of complement. *Vet Immunol Immunopathol* 1983; 5(1): 65-76.
41. Fernandez-Prada CM, Nikolich M, Vemulapalli R, Sriranganathan N, Boyle SM, Schurig GG, et al. Deletion of wboA enhances activation of the lectin pathway of complement in *Brucella abortus* and *Brucella melitensis*. *Infect Immun* 2001; 69(7): 4407-16.
42. Young EJ, Borchert M, Kretzer FL, Musher DM. Phagocytosis and killing of *Brucella* by

- human polymorphonuclear leukocytes. *J Infect Dis* 1985; 151(4): 682-90.
43. Riley LK, Robertson DC. Ingestion and intracellular survival of *Brucella abortus* in human and bovine polymorphonuclear leukocytes. *Infect Immun* 1984; 46(1): 224-30.
 44. Salmeron I, Rodriguez-Zapata M, Salmeron O, Manzano L, Vaquer S, Alvarez-Mon M. Impaired activity of natural killer cells in patients with acute brucellosis. *Clin Infect Dis* 1992; 15(5): 764-70.
 45. Fernandes DM, Benson R, Baldwin CL. Lack of a role for natural killer cells in early control of *Brucella abortus* 2308 infections in mice. *Infect Immun* 1995; 63(10): 4029-33.
 46. Gay B, Sanchez-Teff S, Caravano R. Ultrastructural localization of NADPH-oxidase activity in murine peritoneal macrophages during phagocytosis of *Brucella*. Correlation with the production of superoxide anions. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 1984; 45(2): 147-55.
 47. Jiang X, Baldwin CL. Iron augments macrophage-mediated killing of *Brucella abortus* alone and in conjunction with interferon-gamma. *Cell Immunol* 1993; 148(2): 397-407.
 48. Dawidowicz K, Allanore Y, Guedj M, Pierlot C, Bombardieri S, Balsa A, et al. The interferon regulatory factor 5 gene confers susceptibility to rheumatoid arthritis and influences its erosive phenotype. *Ann Rheum Dis* 2011; 70(1): 17-21.
 49. Araya LN, Elzer PH, Rowe GE, Enright JM, Winter AJ. Temporal development of protective cell-mediated and humoral immunity in BALB/c mice infected with *Brucella abortus*. *J Immunol* 1989; 143(10): 3370-7.
 50. Murphy EA, Sathiyamoorthy J, Parent MA, Zou B, Baldwin CL. Interferon-gamma is crucial for surviving a *Brucella abortus* infection in both resistant C57BL/6 and susceptible BALB/c mice. *Immunology* 2001; 103(4): 511-8.
 51. Oliveira SC, Splitter GA. CD8+ type 1 CD44hi CD45 RBlo T lymphocytes control intracellular *Brucella abortus* infection as demonstrated in major histocompatibility complex class I- and class II-deficient mice. *Eur J Immunol* 1995; 25(9): 2551-7.
 52. Ottones F, Liautard J, Gross A, Rabenoelina F, Liautard JP, Favero J. Activation of human Vgamma9Vdelta2 T cells by a *Brucella suis* non-peptidic fraction impairs bacterial intracellular multiplication in monocytic infected cells. *Immunology* 2000; 100(2): 252-8.
 53. Ottones F, Dornand J, Naroeni A, Liautard JP, Favero J. V gamma 9V delta 2 T cells impair intracellular multiplication of *Brucella suis* in autologous monocytes through soluble factor release and contact-dependent cytotoxic effect. *J Immunol* 2000; 165(12): 7133-9.
 54. Montaraz JA, Winter AJ, Hunter DM, Sowa BA, Wu AM, Adams LG. Protection against *Brucella abortus* in mice with O-polysaccharide-specific monoclonal antibodies. *Infect Immun* 1986; 51(3): 961-3.
 55. Phillips M, Deyoe BL, Canning PC. Protection of mice against *Brucella abortus* infection by inoculation with monoclonal antibodies recognizing *Brucella* O-antigen. *Am J Vet Res* 1989; 50(12): 2158-61.
 56. Elzer PH, Jacobson RH, Nielsen KH, Douglas JT, Winter AJ. BALB/c mice infected with *Brucella abortus* express protracted polyclonal responses of both IgG2a and IgG3 isotypes. *Immunol Lett* 1990; 22(3): 145-50.
 57. Schurig GG, Reep RM, Bagchi T, Boyle S, Buhrman D, Sriranganathan N. Biological properties of RB 1; a stable rough strain of *Brucella abortus*. *Vet Microbiol* 1991; 28(2): 171-8.
 58. Hoffmann EM, Houle JJ. Contradictory roles for antibody and complement in the interaction of *Brucella abortus* with its host. *Crit Rev Microbiol* 1995; 21(3): 153-63.
 59. Zhan Y, Cheers C. Endogenous interleukin-12 is involved in resistance to *Brucella abortus* infection. *Infect Immun* 1995; 63(4): 1387-90.
 60. Zhan Y, Liu Z, Cheers C. Tumor necrosis factor alpha and interleukin-12 contribute to resistance to the intracellular bacterium *Brucella abortus* by different mechanisms. *Infect Immun* 1996; 64(7): 2782-6.
 61. Caron E, Gross A, Liautard JP, Dornand J. *Brucella* species release a specific, protease-sensitive, inhibitor of TNF-alpha expression, active on human macrophage-like cells. *J Immunol* 1996; 156(8): 2885-93.
 62. Zhan Y, Kelso A, Cheers C. Cytokine production in the murine response to brucella infection or immunization with antigenic extracts. *Immunology* 1993; 80(3): 458-64.
 63. Clapp B, Skyberg JA, Yang X, Thornburg T, Walters N, Pascual DW. Protective live oral brucellosis vaccines stimulate Th1 and th17 cell responses. *Infect Immun* 2011; 79(10): 4165-74.
 64. Doyle AG, Halliday WJ, Barnett CJ, Dunn TL, Hume DA. Effect of recombinant human macrophage colony-stimulating factor 1 on immunopathology of experimental brucellosis in mice. *Infect Immun* 1992; 60(4): 1465-72.
 65. Sangari FJ, Garcia-Lobo JM, Aguero J. The *Brucella abortus* vaccine strain B19 carries a deletion in the erythritol catabolic genes. *FEMS*

- Microbiol Lett 1994; 121(3): 337-42.
66. Moreno E. Retrospective and prospective perspectives on zoonotic brucellosis. *Front Microbiol* 2014; 5: 213.
 67. Yang X, Skyberg J, Cao L, Clapp B, Thornburg T, Pascual D. Progress in Brucella vaccine development. *Front Biol* 2013; 8(1): 60-77.
 68. Ashford DA, di PJ, Lingappa J, Woods C, Noll H, Neville B, et al. Adverse events in humans associated with accidental exposure to the livestock brucellosis vaccine RB51. *Vaccine* 2004; 22(25-26): 3435-9.
 69. el Idrissi AH, Benkirane A, el MM, Bouslikhane M, Berrada J, Zerouali A. Comparison of the efficacy of Brucella abortus strain RB51 and Brucella melitensis Rev. 1 live vaccines against experimental infection with Brucella melitensis in pregnant ewes. *Rev Sci Tech* 2001; 20(3): 741-7.
 70. Ghasemi A, Salari MH, Zarnani AH, Pourmand MR, Ahmadi H, Mirshafiey A, et al. Immune reactivity of Brucella melitensis-vaccinated rabbit serum with recombinant Omp31 and DnaK proteins. *Iran J Microbiol* 2013; 5(1): 19-23.
 71. He Y. Analyses of Brucella pathogenesis, host immunity, and vaccine targets using systems biology and bioinformatics. *Front Cell Infect Microbiol* 2012; 2: 2.
 72. Wang Z, Niu J, Wang S, Lv Y, Wu Q. In vivo differences in the virulence, pathogenicity, and induced protective immunity of wboA mutants from genetically different parent Brucella spp. *Clin Vaccine Immunol* 2013; 20(2): 174-80.
 73. Todd TE, Tibi O, Lin Y, Sayers S, Banner DN, Xiang Z, et al. Meta-analysis of variables affecting mouse protection efficacy of whole organism Brucella vaccines and vaccine candidates. *BMC Bioinformatics* 2013; 14(Suppl 6): S3.
 74. Ghasemi A, Ranjbar F, Amani J. In silico analysis of chimeric TF, Omp31 and BP26 fragments of Brucella melitensis for development of a multi subunit vaccine candidate. *Iran J Basic Med Sci* 2014; 17(3): 172-80.
 75. Cannella AP, Tsohis RM, Liang L, Felgner PL, Saito M, Sette A, et al. Antigen-specific acquired immunity in human brucellosis: implications for diagnosis, prognosis, and vaccine development. *Front Cell Infect Microbiol* 2012; 2: 1.
 76. Jain S, Afley P, Kumar S. Immunological responses to recombinant cysteine synthase A of Brucella abortus in BALB/c mice. *World J Microbiol Biotechnol* 2013; 29(5): 907-13.
 77. Cassataro J, Velikovskiy CA, de la Barrera S, Estein SM, Bruno L, Bowden R, et al. A DNA vaccine coding for the Brucella outer membrane protein 31 confers protection against B. melitensis and B. ovis infection by eliciting a specific cytotoxic response. *Infect Immun* 2005; 73(10): 6537-46.
 78. Wang Y, Chen Z, Qiu Y, Ke Y, Xu J, Yuan X, et al. Identification of Brucella abortus virulence proteins that modulate the host immune response. *Bioengineered* 2012; 3(5): 303-5.
 79. Ding F, Lee KJ, Vahedi-Faridi A, Huang T, Xu XH. Design and probing of efflux functions of GFP fused ABC membrane transporters in live cells using fluorescence spectroscopy. *Anal Bioanal Chem* 2011; 400(1): 223-35.
 80. Yang Y, Yin J, Guo D, Lang X, Wang X. Immunization of mice with recombinant S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase protein confers protection against Brucella melitensis infection. *FEBS J Immunol Med Microbiol* 2011; 61(2): 159-7.
 81. Kovach ME, Elzei PH, Robertson GT, Chirhart-Gill and K, Christensen MA, Peterson KM, et al. Cloning and nucleotide sequence analysis of a Brucella abortus gene encoding an 18 kDa immunoreactive protein. *Microb Pathog* 1997; 22(4): 241-6.
 82. Bowden RA, Cloeckeaert A, Zygmunt MS, Dubray G. Evaluation of immunogenicity and protective activity in BALB/c mice of the 25-kDa major outer-membrane protein of Brucella melitensis (Omp25) expressed in Escherichia coli. *J Med Microbiol* 1998; 47(1): 39-48.
 83. Lindler LE, Hadfield TL, Tall BD, Snellings NJ, Rubin FA, Van De Verg LL, et al. Cloning of a Brucella melitensis group 3 antigen gene encoding Omp28, a protein recognized by the humoral immune response during human brucellosis. *Infect Immun* 1996; 64(7): 2490-9.
 84. Kittelberger R, Hilbink F, Hansen MF, Ross GP, de Lisle GW, Cloeckeaert A, et al. Identification and characterization of immunodominant antigens during the course of infection with Brucella ovis. *J Vet Diagn Invest* 1995; 7(2): 210-8.
 85. Limet JN, Cloeckeaert A, Bezard G, Van BJ, Dubray G. Antibody response to the 89-kDa outer membrane protein of Brucella in bovine brucellosis. *J Med Microbiol* 1993; 39(6): 403-7.
 86. Vizcaino N, Cloeckeaert A, Dubray G, Zygmunt MS. Cloning, nucleotide sequence, and expression of the gene coding for a ribosome releasing factor-homologous protein of Brucella melitensis. *Infect Immun* 1996; 64(11): 4834-7.

87. Roop RM, Fletcher TW, Sriranganathan NM, Boyle SM, Schurig GG. Identification of an immunoreactive *Brucella abortus* HtrA stress response protein homolog. *Infect Immun* 1994; 62(3): 1000-7.
88. Baldi PC, Wanke MM, Loza ME, Monachesi N, Fossati CA. Diagnosis of canine brucellosis by detection of serum antibodies against an 18 kDa cytoplasmic protein of *Brucella* spp. *Vet Microbiol* 1997; 57(2-3): 273-81.
89. Bricker BJ, Tabatabai LB, Deyoe BL, Mayfield JE. Conservation of antigenicity in a 31-kDa *Brucella* protein. *Vet Microbiol* 1988; 18(3-4): 313-25.
90. Teixeira-Gomes AP, Cloeckert A, Bezard G, Bowden RA, Dubray G, Zygmunt MS. Identification and characterization of *Brucella ovis* immunogenic proteins using two-dimensional electrophoresis and immunoblotting. *Electrophoresis* 1997; 18(8): 1491-7.
91. Rossetti OL, Arese AI, Boschioli ML, Cravero SL. Cloning of *Brucella abortus* gene and characterization of expressed 26-kilodalton periplasmic protein: potential use for diagnosis. *J Clin Microbiol* 1996; 34(1): 165-9.
92. Hemmen F, Weynants V, Scarcez T, Letesson JJ, Saman E. Cloning and sequence analysis of a newly identified *Brucella abortus* gene and serological evaluation of the 17-kilodalton antigen that it encodes. *Clin Diagn Lab Immunol* 1995; 2(3): 263-7.
93. Cespedes S, Andrews E, Folch H, Onate A. Identification and partial characterization of a new protective antigen of *Brucella abortus*. *J Med Microbiol* 2000; 49(2): 166-70.
94. Zygmunt MS, Gilbert FB, Dubray G. Purification, characterization, and seroactivity of a 20-kilodalton *Brucella* protein antigen. *J Clin Microbiol* 1992; 30(10): 2662-7.
95. Al-Mariri A. Protection of BALB/c mice against *Brucella melitensis* 16 M infection induced by vaccination with live *Escherichia coli* expression *Brucella* P39 protein. *Vaccine* 2010; 28(7): 1766-70.
96. Denoel PA, Vo TK, Weynants VE, Tibor A, Gilson D, Zygmunt MS, et al. Identification of the major T-cell antigens present in the *Brucella melitensis* B115 protein preparation, Brucellergene OCB. *J Med Microbiol* 1997; 46(9): 801-6.
97. Oliveira SC, Splitter GA. Immunization of mice with recombinant L7/L12 ribosomal protein confers protection against *Brucella abortus* infection. *Vaccine* 1996; 14(10): 959-62.
98. Vemulapalli R, Duncan AJ, Boyle SM, Sriranganathan N, Toth TE, Schurig GG. Cloning and sequencing of yajC and secD homologs of *Brucella abortus* and demonstration of immune responses to YajC in mice vaccinated with *B. abortus* RB51. *Infect Immun* 1998; 66(12): 5684-91.
99. Chirhart-Gilleland RL, Kovach ME, Elzer PH, Jennings SR, Roop RM. Identification and characterization of a 14-kilodalton *Brucella abortus* protein reactive with antibodies from naturally and experimentally infected hosts and T lymphocytes from experimentally infected BALB/c mice. *Infect Immun* 1998; 66(8): 4000-3.
100. Stevens MG, Tabatabai LB, Olsen SC, Cheville NF. Immune responses to superoxide dismutase and synthetic peptides of superoxide dismutase in cattle vaccinated with *Brucella abortus* strain 19 or RB51. *Vet Microbiol* 1994; 41(4): 383-9.
101. Brooks-Worrell BM, Splitter GA. Antigens of *Brucella abortus* P19 immunodominant for bovine lymphocytes as identified by one- and two-dimensional cellular immunoblotting. *Infect Immun* 1992; 60(6): 2459-64.
102. Rosas C, Fragoso G, Ainciart N, Esquivel-Guadarrama F, Santana A, Bobes RJ, et al. *Brucella* spp. lumazine synthase: a novel adjuvant and antigen delivery system to effectively induce oral immunity. *Microbes Infect* 2006; 8(5): 1277-86.
103. Sciutto E, Toledo A, Cruz C, Rosas G, Meneses G, Laplagne D, et al. *Brucella* spp. lumazine synthase: a novel antigen delivery system. *Vaccine* 2005; 23(21): 2784-90.
104. Yang X, Hudson M, Walters N, Bargatze RF, Pascual DW. Selection of protective epitopes for *Brucella melitensis* by DNA vaccination. *Infect Immun* 2005; 73(11): 7297-303.
105. Delpino MV, Estein SM, Fossati CA, Baldi PC, Cassataro J. Vaccination with *Brucella* recombinant DnaK and SurA proteins induces protection against *Brucella abortus* infection in BALB/c mice. *Vaccine* 2007; 25(37-38): 6721-9.
106. Yang Y, Wang L, Yin J, Wang X, Cheng S, Lang X, et al. Immunoproteomic analysis of *Brucella melitensis* and identification of a new immunogenic candidate protein for the development of brucellosis subunit vaccine. *Mol Immunol* 2011; 49(1-2): 175-84.
107. Ghasemi A, Zarnani AH, Ghoojani A, Rezaei S, Salari MH, Jeddi-Tehrani M. Identification of a new immunogenic candidate conferring protection against *Brucella melitensis* infection in Mice. *Mol Immunol* 2014; 62(1): 142-9.
108. Jain S, Afley P, Dohre SK, Saxena N, Kumar S. Evaluation of immunogenicity and protective

- efficacy of a plasmid DNA vaccine encoding ribosomal protein L9 of *Brucella abortus* in BALB/c mice. *Vaccine* 2014; 32(35): 4537-42.
- 109.** Clauss M, Diaz AG, Ghersi G, Zylberman V, Cassataro J, Giambartolomei GH, et al. The vaccine candidate BLSOmp31 protects mice against *Brucella canis* infection. *Vaccine* 2013; 31(51): 6129-35.
- 110.** Li X, Xu J, Xie Y, Qiu Y, Fu S, Yuan X, et al. Vaccination with recombinant flagellar proteins FlgJ and FlgN induce protection against *Brucella abortus* 544 infection in BALB/c mice. *Vet Microbiol* 2012; 161(1-2): 137-44.
- 111.** Fu S, Xu J, Li X, Xie Y, Qiu Y, Du X, et al. Immunization of mice with recombinant protein CobB or AsnC confers protection against *Brucella abortus* infection. *PLoS One* 2012; 7(2): e29552.
- 112.** Ghasemi A, Jeddi-Tehrani M, Mautner J, Salari MH, Zarnani AH. Immunization of mice with a novel recombinant molecular chaperon confers protection against *Brucella melitensis* infection. *Vaccine* 2014. [Epub ahead of print].

Proof Version

Brucella: Pathogenesis, Immune System Response and VaccineAmir Ghasemi PhD¹, Reza Ranjbar PhD²**Review Article****Abstract**

Bacteria of the genus *Brucella* are intracellular pathogens capable of surviving and replicating within macrophages of mammalian hosts. Resistance to killing in professional phagocytic cells controls survival and chronic infection. Recent advances have shed light on virulence factors and host functions involved at various stages of the *Brucella* intracellular life cycle. This review focuses on how this pathogen uses multiple strategies to circumvent macrophage defense mechanisms and generate an organelle permissive for replication. In addition, we discuss about host immune responses to *Brucella* and new strategies are used to produce an efficient vaccine against *Brucella* infection.

Keywords: *Brucella*, Vaccine, Pathogenesis, Macrophage

Citation: Ghasemi A, Ranjbar R. **Brucella: Pathogenesis, Immune System Response and Vaccine.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(295): ??.

Proof Version

1- Assistant Professor, Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

2- Associate Professor, Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Corresponding Author: Amir Ghasemi PhD, Email: ghasemia77@yahoo.com