

Механизмы клеточного иммунного ответа при бруцеллезе

В.И. Дубровина (dubrovina-valya@mail.ru), Ж.А. Коновалова, К.Ю. Ястремская, Н.Л. Баранникова, Л.Е. Токарева, С.В. Балахонов

ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора»

Резюме

В обзоре обсуждается современное состояние вопроса взаимодействия бруцелл с макроорганизмом. Приведены сведения о механизмах персистенции бруцелл в организме хозяина за счет их способности длительно сохраняться в клетках иммунофагоцитарной системы. Представлены данные о различиях бруцелл в гладкой и шероховатой формах по инвазивной способности. Показана роль макрофагов в бруцеллезной инфекции. Обозначены перспективные направления исследований в области иммунологии бруцеллеза.

Ключевые слова: *Brucella*, фагоцитоз, патогенез.

The Mechanisms of Cellular Immune Response in Brucellosis

V.I. Dubrovina (dubrovina-valya@mail.ru), Zh. A. Konovalova, K.U. Yastremskaya, N.L. Barannikova, L.E. Tokareva, S.V. Balakhonov
Irkutsk Anti plague Research Institute of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing

Abstract

The current state of the problem of *Brucella* interactions with the host in the review is discussed. Provides information about the mechanisms of persistence of *Brucella* in the host organism due to their ability long remain in the cells immunoregulatory system. Data on the differences of *Brucella* in smooth and rough forms on invasive ability are presented. The key role of the macrophage in *Brucella* infection is shown. Promising areas of research in the field of immunobiology of brucellosis are indicated.

Key words: *Brucella*, phagocytosis, pathogenesis

Возбудитель бруцеллеза относится к грамотрицательным, аэробным/микроаэрофильным -протеобактериям. Бруцеллы являются факультативными внутриклеточными патогенами, вызывающими заболевание у большого числа животных и человека [1 – 7]. Несмотря на то, что бруцеллы инфицируют человека как вторичного хозяина, в мире ежегодно регистрируется 500 тыс. новых случаев заражения бруцеллезом людей [5]. Механизмы иммунной защиты человека недостаточно эффективно справляются с возбудителем бруцеллеза, в результате развивается, как правило, хроническое рецидивирующее заболевание, длящееся неопределенно долго и приводящее к глубоким поражениям опорно-двигательного аппарата, многих органов и тканей, центральной нервной системы. Постинфекционный иммунитет обладает слабой напряженностью, быстро снижается в течение первого года после заражения, оставляя глубокие аллергические сдвиги, состояние патергии. В результате организм остается восприимчивым к повторному заражению, причем повторное попадание возбудителя вызывает тяжелые аллергические процессы с органически необратимыми поражениями паренхиматозных органов, соединительной ткани и нервной системы [8]. *Brucella melitensis*, *B. abortus* и *B. suis*

являются наиболее патогенными видами бруцелл для человека. Центр по контролю и профилактике заболеваний США отнесит бруцеллы этих видов к агентам биотерроризма и они входят в список категории В опасных патогенов [9, 10].

В настоящее время отсутствуют щадящие методы лечения, лицензированные вакцины против бруцеллеза в зарубежных странах, а на территории Российской Федерации вакцина бруцеллезная сухая ограничена в применении в виду ряда противопоказаний и возможных тяжелых поствакцинальных реакций [11]. Лечение бруцеллеза осуществляется определенной комбинацией антибиотиков в течение длительного периода времени, а число случаев рецидива бруцеллеза после завершения курса антибиотикотерапии достигает 10% [5, 10].

При попадании бруцелл в организм происходит их фагоцитоз нейтрофилами и макрофагами, который не завершается лизисом всех микроорганизмов, а, напротив, через 48 – 72 ч количество бактерий в фагоцитах увеличивается [1]. Несмотря на длительное изучение бруцеллезной инфекции, в частности его латентной формы, механизмы длительного выживания бруцелл в естественных условиях без иммунного распознавания остаются не выясненными [10].

Известно, что многие (естественные) природные хозяева могут оставаться инфицированными на протяжении всей жизни [12]. В макроорганизме (человека или животных) бруцеллы персистируют, преимущественно внутри макрофагов, поэтому ключевым условием для хронизации бруцеллеза является способность возбудителя длительное время существовать в фагосомальном компартменте фагоцитирующих клеток макроорганизма [4].

Отмечено, что хронизация инфекции происходит в результате способности некоторых бруцелл противостоять киллингу промежуточных активных форм кислорода и оксида азота в фагоцитах хозяина, с последующей активацией бактериальных генов в ответ на закисление фагосомы, предотвращением фаголизосомального слияния, ремоделированием внутриклеточного пространства и соответственно внутриклеточной репликацией [13].

Установлено, что сразу после проникновения в макрофаг бруцеллы располагаются в подкисленном компартменте, который сливается с компонентами ранней стадии эндосомного обмена. Там они переживают окислительный взрыв. По данным ряда исследователей, единственная периплазматическая каталаза *B. melitensis* функционирует как антиоксидант, и этот фермент не играет критической роли в вирулентности у природных хозяев [14]. Поэтому нет ничего удивительного в том, что в экспериментах они весьма устойчивы к действию факторов внешней среды, хотя с ней сами непосредственно не соприкасаются. Продвижение содержащих бруцеллы вакуолей по эндосомно-лизосомному пути обмена ограничено, и вирулентные штаммы переносятся во внутриклеточный компартмент, обычно называемый репликативной фагосомой. Иногда его еще называют «бруцеллосомой». Образование репликативных фагосом происходит в результате обычного клеточного процесса – постоянных взаимодействий между содержащей *Brucella* вакуолью и эндоплазматическим ретикулумом макрофагов хозяина. Эти репликативные фагосомы не только не сливаются с лизосомами, но и внутри их повышается pH; условия среды становятся более благоприятными для внутриклеточного существования бруцелл [8, 15].

Показано, что большинство из идентифицированных генов патогенности необходимы не для нанесения микроорганизмом «поражения» фагоцитирующей клетке, а для физиологической адаптации к условиям среды в ее репликативной фагосоме. Например, это гены, кодирующие фермент цитохром-bd-оксидазу, имеющий высокий аффинитет к кислороду и позволяющий бруцеллам выживать в условиях окислительного стресса. Оперон *bvrRS* *Brucella* кодирует двухкомпонентную регуляторную систему, контролирующую экспрессию генов, содействующих сохранению целостности клеточной оболочки. Измененные свойства мембраны *bvrRS*-мутантов *B. abortus* делают их менее устойчивыми к кислой среде, в которой им при-

ходится находиться в фагосомном компартменте макрофагов хозяина на ранних стадиях инфекции. Обнаружено также, что *bvrRS*-мутанты *B. abortus* неспособны достичь репликативной фагосомы [15].

Иммунная система у различных природных хозяев обладает слабой реакцией против бруцелл, но достаточно сильной против живых аттенуированных вакцинных штаммов *Brucella*. Так, в комплекс взаимодействий хозяин-патоген, вовлечено большое количество молекул, клеток и биологических процессов.

Выявлена роль большого числа белковых факторов патогенности бруцелл, которые участвуют в патогенезе бруцеллеза при взаимодействии с иммунной системой макроорганизма. Использование онтологии генов и геномов, а также белковой онтологии позволило получить информацию о наличии у бруцелл 269 белковых детерминант патогенности, относящихся к макрофаг-*Brucella* взаимодействиям и 81 – основных для внутримacroфагального размножения и бруцелла-связанному апоптозу клеток [9, 16, 17].

Различные уровни взаимодействий хозяин-патоген основываются на разных типах клеток макроорганизма. Существуют три основных механизма взаимодействия вирулентных бруцелл с макрофагами хозяина, которые включают внедрение бруцелл в фагоциты, внутриклеточный транспорт веществ и внутриклеточное размножение. Два первых механизма патогенеза бруцеллеза представлены четвертым типом системы секреции (T4SS), которая обеспечивает внутриклеточный транспорт, а также репликацию и метаболизм эритрита, участвующих во внутриклеточном выживании бруцелл. Кроме того, показана важная роль T4SS в активации инфламмосомы, которая участвует в аутокаталитическом возбуждении каспазы-1 [13]. Как известно, T4SS имеет важное значение для селективной транслокации белков и ДНК-белковых комплексов [18]. T4SS бруцелл, кодируемая *virB* опероном, является главным фактором патогенности [19 – 21]. T4SS *virB* бруцелл включает 12 генов, экспрессия которых происходит в результате закисления фагосомы при фагоцитозе бруцелл. Установлено, что T4SS необходима для движения S-бруцелл к репликационным нишам и внутриклеточного выживания в клетках макроорганизма. Вместе с тем, для бруцелл в R-форме экспрессия T4SS является важной в механизмах реализации цитотоксичности в макрофагах [18].

Гибель клеток макроорганизма является главным итогом взаимодействия хозяин-патоген. Известно, что вирулентные бруцеллы для выживания и репликации препятствуют апоптозу макрофагов. Однако живой аттенуированный вакцинный штамм *B. abortus* RB51 вызывает каспаза-2-зависимый провоспалительный апоптоз фагоцитов. Для продления периода внутриклеточного выживания, бруцеллы ингибируют активацию механизмов воспаления хозяина. Так, бруцеллезный липолисахарид (ЛПС) име-

ет в 100 – 1000 раз сниженную способность активировать провоспалительные цитокины ФНО- α и IL-1 по сравнению с ЛПС *Escherichia coli* [22].

По имеющимся в литературе сведениям, ЛПС *V. abortus* в S-форме обладает иммуномодулирующей активностью, которая потенциально помогает бактерии в обеспечении длительного существования в макрофагах хозяина. В частности, эта молекула не разрушается фагоцитами, а переносится к их клеточной поверхности, где она образует макромолекулы с молекулами МНС класса II. Образование комплекса МНС класса II–ЛПС приводит к снижению способности инфицированного хозяина активировать специфические к антигенам *Brucella* CD4⁺ T-клетки [23].

Известно, что одним из внутриклеточных стрессов, с которым сталкиваются бруцеллы в макроорганизме является пищевая депривация. В таких случаях бруцеллы используют альтернативные пути метаболизма для получения углерода, азота, кислорода, фосфора, серы и металлов из внутриклеточной среды хозяина [9]. Усвоение углерода посредством метаболизма эритритола считается альтернативным путем для бруцелл [15, 24]. Имеются сведения о том, что геном аттенуированного вакцинного штамма *V. abortus* S19 включает 703 нуклеотидных делеции в *ery* опероне, которые влияют на ген *eryC*, кодирующий фермент эритрулоза-1-фосфат дегидрогеназа (*EryC*) и *eryD*, кодирующий регулятор экспрессии *ery* оперона *EryD* [25]. Установлено, что подобная делеция вызывает аттенуацию штамма *V. abortus* S19 [26]. Также отмечено снижение способности мутанта *eryC* *V. suis* к размножению внутри макрофагов [24, 27].

Бруцеллы часто описываются как латентные патогены, способные активно уклоняться от иммунного ответа, за счет особенности их персистенции в макроорганизме. Эта гипотеза основана, прежде всего, на том факте, что бруцеллезный ЛПС является слабым активатором макрофагов и дендритных клеток по сравнению с классическим ЛПС *E. coli*. Несмотря на современный прогресс в изучении бруцеллеза, остается неизвестным все, что касается клеточных факторов врожденного и адаптивного иммунных ответов, вызванных бруцеллами [13]. Важнейшим компонентом иммунитета, обуславливающим выживание хозяина, и таким образом, поддерживающим это хроническое инфекционное состояние, является ИФН- γ . Продукция ИФН- γ происходит в результате способности компонентов бруцелл, включая липид А, взаимодействовать с Toll-подобными рецепторами (TLR) с последующим синтезом IL-12 и ФНО- α . При этом отмечается также продукция регуляторного IL-10, что приводит к снижению контроля над инфекцией. И хотя CD4 и CD8 T-клетки однозначно вовлечены в продукцию ИФН- γ , а CD8 T-клетки могут быть цитотоксичными, роль NK клеток и цитотоксичности в протективном иммунитете к бруцеллезу экспериментально не была обоснована (не изучена) [27].

Показано, что CD4⁺T-клетки, продуцирующие ИФН- γ и дендритные клетки, продуцирующие индуцибельную синтазу оксида азота (iNOS/NOS2) являются главными компонентами протективного иммунного ответа против возбудителя бруцеллеза. В активацию этих клеток вовлечены TLR4 и TLR9, соединенные с цитозольным адаптерным белком MyD88 [28 – 34]. Установлено, что *V. melitensis* активирует TLR9/MyD88 сигнальные пути, вызывая продукцию NO инфицированными провоспалительными дендритными клетками. NO проявляет токсичность как в отношении тканей хозяина, так и патогенов и его регуляция является важной в супрессии цитотоксичности хозяина. Индукция Arg1 экспрессии через TLR/MyD88-зависимый путь в ответ на обнаружение бактерий может считаться ответным механизмом, который ограничивает токсичность для иммунной системы во время хронической инфекции. Тем не менее, этот механизм может также способствовать внутриклеточной персистенции бактерий путем ограничения продукции NO и представляет собой механизм уклонения внутриклеточных патогенов от действия иммунной системы [6, 12, 19].

Бруцеллы вызывают хроническое гранулематозное воспаление в печени и селезенке у природных хозяев, человека и мышей [35]. Между тем, важность гранул в контроле роста бруцелл, их клеточного состава и сигнальных путей изучены недостаточно. В результате проведенных экспериментов установлено, что MyD88, IL-12p35 и ИФН- γ являются ключевыми элементами Th1 иммунного ответа, контролирующего рост бруцелл в селезенке [28, 30, 32, 36].

Альтернативная активация макрофагов (M2a), вызванная IL-4/IL-13 через/посредством STAT6 сигнальных путей часто описывается как выгодная ниша для длительно продолжающейся персистенции внутриклеточных бактерий. На основании данных экспериментов в условиях *in vitro*, сделано предположение, что M2a-подобные макрофаги, выделенные из селезенки во время хронической фазы бруцеллеза у мышей, вызванного *V. abortus* и зараженные в высоких дозах возбудителем, могут являться нишей для микроба в условиях *in vivo*. Несмотря на имеющиеся к настоящему времени достижения в изучении бруцеллеза на мышинной модели, очень малоизвестно о фенотипе и физиологическом статусе клеток хронически инфицированных *Brucella in situ* [6].

Известно, что внедрение неопсонизированных бруцелл в S-форме зависит от цитоскелета клеток хозяина. Бруцеллы в S-форме взаимодействуют с фагоцитами посредством холестерол-обогащенных микромоделей (липидные рафты) внутри плазматической мембраны, что облегчает контакт с клетками хозяина и опосредует внедрение в фагоцитирующие клетки. Липидные рафты содержат гликофинголипиды, холестеролигликозил-фосфатидил-инозитол, прошитые белками, способствуют

формированию мультисубъединичных мембранных комплексов, которые передают сигнал через мембраны с последующей их интеграцией. Кроме плазматических мембран, липидные рафты обнаружены во внутриклеточных органеллах и везикулах. Бруцеллезный О-полисахарид ЛПС является ключевой молекулой при взаимодействии с липидными рафтами фагоцитов, но в тоже самое время препятствует комплемент-опосредованному бактериальному лизису и апоптозу клеток макроорганизма. Установлено, что опсонизация бруцелл в гладкой форме посредством рецепторов IgG (Fc) и комплемента (C3band 4b) повышает их поглощение в 10 раз и осуществляется через липидные рафты на поверхности фагоцитов с образованием фагосом. В результате такого рецептор-опосредованного фагоцитоза происходит повышение киллинга бруцелл, поглощенных моноцитами. Несмотря на то, что опсонизация специфическими IgG или активация ИФН- γ повышает бруцеллацидную активность культивированных макрофагов, вирулентные штаммы все же выживают в этих клетках и демонстрируют внутриклеточную репликацию. Выявлены различия между бруцеллами в R- и S-форме по их способности проникать в клетки иммунофагоцитарной системы. Так, бруцеллы в R-форме с ЛПС-дефицитной бактериальной поверхностью быстро распознаются TLR4 или маннозным рецепторами и фагоцитируются, поскольку неспособны поддерживать взаимодействия с липидными рафтами. В результате, бруцеллы в R-форме проявляют повышенную адгезивную и инвазивную способность в отношении фагоцитов, что связано с экранированием лигандов O частью цепи ЛПС. Следовательно, процесс переноса неопсонизированных бруцелл в R-форме осуществляется также эффективно, как и опсонизированных, с быстрым попаданием в фагосомальный компартмент и не сопровождается размножением. В механизм внедрения гладких и шероховатых дериватов бруцелл в клетки макроорганизма вовлечены рецепторы, которые через различные пути способны регулировать уровень фагоцитоза. Между тем, имеются сведения, что бруцеллы в R-форме, дефектные по внутриклеточному размножению и внутриклеточные бруцеллы в S-форме (которые выжили после опсонин-опосредованного фагоцитоза) способны к внутриклеточному размножению. Гены, необходимые для синтеза O фрагмента цепи ЛПС (ген *wboA*, кодирующий гликозилтрансферазу; ген *manB*, кодирующий бета-маннозидазу) играют существенную роль в создании внутриклеточного репликативного компартмента для бруцелл в S-форме латентного периода [10]. Бруцеллы обладают способностью ингибировать активность паттернраспознающих малоспецифичных рецепторов (PRR) врожденной иммунной системы макроорганизма. Слабое распознавание бруцелл TLR4 рецепторами фагоцитов обусловлено высокой гидрофобностью клеточной оболочки бруцелл и особенностями строения её

ЛПС, что проявляется задержкой и снижением воспалительной реакции организма по сравнению с другими грамотрицательными бактериями. O-фрагмент цепи ЛПС *Brucella* взаимодействует с молекулами главного комплекса гистосовместимости II класса, которые влияют на способность макрофагов презентовать экзогенные белки. Известно, что орнитин-содержащие липиды и липопотеины, содержащиеся в наружной мембране бруцелл являются слабыми активаторами врожденного иммунитета. Бруцеллы также лишены многих классических структур, вовлеченных в вирулентность, таких как пили, фимбрии, капсулы и плазмиды, которые стимулируют PRR [23].

Способность бруцелл препятствовать образованию фагосом и их слиянию с лизосомами может влиять на врожденный и адаптивный иммунный ответ. Некоторые белки *Brucella* проявляют высокую гомологию с адапторными молекулами TLR и могут препятствовать TLR-сигналированию. Процесс персистенции бруцелл в S-форме, в отличие от R-форм, осуществляется за счет ингибирования апоптоза и благоприятных условий среды фагоцита, что способствует снижению их репликативной активности и уклонению от действия антител и комплемента. По сравнению с другими грамотрицательными бактериями, бруцеллы вызывают снижение иммунного ответа и низкий уровень созревания и активации дендритных клеток, которые могут влиять на развитие адаптивного иммунного ответа [4 – 7, 9, 10].

Установлено, что у людей *B. suis* снижают апоптоз моноцитов и макрофагов, тем самым предотвращая элиминацию клеток хозяина. У мышей, которые естественно не колонизируются этой бактерией, бруцеллезная инфекция развивается по Типу 1 (Th1) клеточного иммунного ответа, что способствует очищению организма от бактерий. Развитие этого ответа находится под контролем таких основных цитокинов как, ФНО- α , ИФН- γ и IL-12, которые продуцируются в начале инфекции [29]. Отмечено, что макрофаги человека, инфицированные *B. suis* продуцируют IL-1, IL-6, IL-10 и несколько хемокинов, в том числе IL-8, но не секретируют ФНО- α . Показано, что у мутантов бруцелл в ингибирование секреции ФНО- α вовлечен белок наружной мембраны Omp25 *Brucella*, однако механизм, регулирующий этот процесс до настоящего времени не расшифрован. Вполне вероятно, что продукция ФНО- α , индуцированная Omp25 способствует уклонению бактерий от антимикробной защиты макроорганизма. Во-первых, за счет предотвращения аутокринной активации макрофагов и, следовательно, ингибирования врожденного иммунитета и, во-вторых, нарушением продукции IL-12 и развития Th1-типа специфического иммунитета [10].

В иммунном реагировании на бруцеллезную инфекцию кроме макрофагов принимают участие и другие клеточные элементы врожденного иммунного ответа. Так, у больных острым бруцеллезом

высокий уровень содержания V γ V δ 2 Т-клеток в периферической крови свидетельствует об их важной роли в раннем ответе на инфекцию. Показано, что человеческие V γ V δ 2 Т-клетки могут специфически активироваться непептидными низкомолекулярными соединениями, полученными из лизата *B. suis* или растворимыми факторами, продуцируемыми макрофагами, инфицированными *B. suis*. В этих условиях V γ V δ 2 Т-клетки продуцируют ФНО- α и ИФН- γ , что ведет к снижению бактериального размножения внутри инфицированных аутологических макрофагов, обусловленному как растворимыми факторами, так и контакт-зависимой цитотоксичностью. Взаимодействия между бактерией и $\gamma\delta$ Т-клетками может препятствовать внутримacroфагальному развитию возбудителя и в конечном итоге влияет на дальнейшее развитие защиты хозяина. Предположительно хронизация или элиминация инфекции будет зависеть от баланса между противоположными эффектами, вызванными бактериями, которые принесут пользу либо хозяину либо возбудителю [27, 37].

У естественных/природных хозяев плацентарные трофобласты представляют второй тип клеточной защиты, который играет главную роль в патологии бруцеллезной инфекции. Эти клетки являются компонентами эпителиальных слоёв плаценты и представляют важную границу раздела между материнской и фетальной циркуляцией. У жвачных животных и других природных хозяев бруцеллы могут размножаться внутри плацентарных трофобластов в поздние сроки беременности. Быстрый и массивный рост бруцелл в этих клетках может приводить к нарушению целостности плаценты и заражению развивающегося плода, и, как следствие, аборт или слаборожденное инфицированное потомство.

Микроскопический анализ плацентарных тканей, полученных из инфицированного крупного рогатого скота, мелкого рогатого скота при аутопсии, показал, что бруцеллы размножаются во внутриклеточных компартментах связанных с шероховатым эндоплазматическим ретикуломом в плацентарных трофобластах. Вероятно внутриклеточный компартмент, заселенный бруцеллами внутри плацентарных трофобластов, сходен по составу с макрофагами жвачных животных, тем не менее, требуется проведение дополнительных исследований по изучению моделей внутриклеточного транспорта веществ в плацентарных трофобластах при взаимодействии с вирулентными штаммами бруцелл. Проведение таких исследований позволит понять сложный патогенез бруцеллеза и механизмы иммунитета хозяина. Кроме того, недостаточно изучены условия окружающей среды, с которыми сталкиваются бруцеллы внутри этих клеток хозяина помимо того факта, что плацентарные трофобласты жвачных вырабатывают значительное количество эритрола [38 – 40], являющегося стимулятором роста этих бактерий в половых путях жвачных.

По мнению С.Л. Baldwin и J. Dornand, взаимодействие между различными клетками должны быть учтены в анализе вирулентности бактерий и в развитии в условиях *in vitro* человеческой макрофагальной инфекции [27, 37].

Бруцеллы проявляют сильный тканевый тропизм к лимфоретикулярной и репродуктивной системе с внутриклеточным жизненным циклом. Это свойство возбудителя ограничивает проявление врожденного и адаптивного иммунных ответов, секвестрирует организм от действия антибиотиков, и вызывают клинические проявления болезни и патологию. Латентные бруцеллы используют несколько путей для развития инфекции, в том числе:

1. уклонение от внутриклеточной деструкции посредством ограничения слияния зависимого от системы секреции четвертого типа *Brucella*-содержащих вакуолей с лизосомальными компартментами;
2. ингибирование апоптоза инфицированных митохондриальных клеток;
3. предотвращение созревания дендритных клеток, антигенной презентации, активации наивных Т-клеток [28].

Несмотря на выраженный полиморфизм клинических проявлений заболевания, воспаление является основным признаком бруцеллеза и пораженных тканей с наличием воспалительных инфильтратов. Поскольку у бруцелл отсутствуют экзотоксины, экзопроотеазы или цитолизины, то развитие болезни обусловлено воспалительным процессом, что подтверждено результатами патологических исследований. В последние годы расшифрованы клеточные и молекулярные основы иммунопатологических проявлений патогенеза. *Brucella*-инфицированные остеобласты, сами по себе или совместно с инфицированными макрофагами продуцируют цитокины, хемокины и матриксные металлопротеиназы (ММП), аналогичные явления происходят в фибробласт-подобных синовиоцитах. Высвобождаемые цитокины способствуют секреции ММП и вызывают остеокластогенез. В целом эти явления могут способствовать костной и хрящевой деструкции, которые обычно наблюдаются при бруцеллезном артрите и остеомиелите. Провоспалительные цитокины также могут быть вовлечены в патогенез нейробруцеллеза. *B. abortus* и его липопротеиды вызывают воспалительные реакции в центральной нервной системе мышей, ведущие к астроглиозу, характерной особенностью нейробруцеллеза. Термоубитые бактерии и липидированная форма наружного мембранного белка *B. abortus* (L-Omp19) вызывают апоптоз и пролиферацию астроцитов (два признака астроглиоза), и апоптоз, зависимый от ФНО- α сигнала. Бруцеллы также инфицируют и реплицируются в человеческих эндотелиальных клетках, индуцируя выработку хемокинов и IL-6, и повышенную экспрессию молекул адгезии. Возможно, устойчивый

воспалительный процесс производный от хронической инфекции эндотелия, имеет важное значение для развития эндокардита. Бруцеллы индуцируют воспалительный ответ низкой степени по сравнению с другими микроорганизмами, его длительная внутриклеточная персистенция в зараженных тканях поддерживает длительную воспалительную реакцию, которая опосредует различные пути повреждения тканей. Моделирование процессов ингибирования инвазии клеток макроорганизма или ограничения внутриклеточного выживания бактерий позволит найти подходы к предотвращению патологических последствий бруцеллезной инфекции [39].

Использование набора исследовательских протоколов системной биологии, а также высокопроизводительных технологий (транскриптомика, протеомика и других) позволят выявить новые эффекторные белки *Brucella*, которые могут стать целевыми мишенями при создании улучшенных, более безопасных бруцеллезных вакцин и терапевтических препаратов [40].

Живые вакцины *Brucella abortus* успешно используются для профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота во всем мире на протяжении десятилетий. Однако из-за некоторых ограничений в применении живых вакцин, предпринимаются попытки разработки новых более безопасных и эффективных препаратов, которые могут также использоваться для других восприимчивых видов. В этом контексте, изучение клеток, являющихся резервуаром для бруцелл, а также защитных иммунных реакций, вызываемых *B. abortus* и *B. melitensis*, будет способствовать лучшему пониманию механизмов их персистенции в макроорганизме, разработке более эффективных инновационных терапевтических и профилактических стратегий [9, 28]. Показано, что жизненно важным для преодоления инфекции является активное участие макрофагов, дендритных клеток, CD4+ Т-клеток, продуцирующих ИФН- γ , а также цитотоксических CD8+ Т-клеток [7].

Таким образом, на протяжении последнего десятилетия наблюдался значительный прогресс в нашем понимании молекулярных механизмов, лежащих в основе активации врожденного иммунитета. Структурный анализ нескольких TLRs по-

зволил идентифицировать и охарактеризовать механизмы PAMP (патоген ассоциированный молекулярный паттерн, PAMP – pathogen-associated molecular patterns) распознавания TLR гомо- или гетеродимерами, многими сигнальными молекулами, вовлеченными в активацию белковых транскрипционных факторов NF- κ B, активатора протеина 1 и регуляторного фактора интерферона [41]. При бруцеллезной инфекции TLR9 является наиболее важным среди других TLR в активации иммунной системы хозяина. Выявление рецепторов хозяина, которые распознают патоген-производные нуклеиновые кислоты показало важную роль зондирования нуклеиновых кислот в запуске иммунитета к внутриклеточным патогенам, вовлеченных в активацию врожденного иммунитета хозяина. Установлена адьювантная роль нуклеиновых кислот, которые активируют систему врожденного иммунитета через TLRs и/или другие образующие рецепторы и играют ключевую роль в усилении адаптивного иммунитета к внутриклеточным патогенам.

На основании вышеизложенного можно выделить следующие направления исследований защитных механизмов иммунных реакций макроорганизма в ответ на внедрение возбудителя бруцеллеза, которые будут иметь решающее значение для разработки новых эффективных вакцин:

- использование патогенассоциированных молекулярных паттернов и/или эндогенных агонистов, которые стимулируют иммунные клетки;
- изучение механизмов, лежащих в основе взаимодействия бруцелл с инфламмосомами, позволит определить значение продукции IL-1 и его связи с клиническими симптомами ундулирующей лихорадки у людей больных бруцеллезом;
- изучение клеточного состава, механизмов сигнальных путей гранулем и их значение в размножении бруцелл;
- раскрытие сложных механизмов функционирования транскрипционных сетей, которые работают при врожденной иммунной активации рецепторов и определение последующих иммунных реакций и патологических проявлений при бруцеллезе. ■

Литература

1. Лабинская А.С., Костюкова Н.Н., Иванова С.М., ред. Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. Книга II. Москва: БИНОМ; 2012.
2. Ющук Н.Д., Венгеров Ю.Я., ред. Инфекционные болезни: национальное руководство. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2010.
3. Pei J., Wu Q., Kahl-Mc Donagh M., Ficht T.A. Cytotoxicity in macrophages infected with rough *Brucella* mutants is type IV secretion system dependent. *Infection and Immunity*. 2008; 76(1): 30 – 37.
4. Roop R.M., Bellaire B.H., Valderas M.W., Cardelli J.A. Adaptation of the *Brucellae* to their intracellular niche. *Molecular Microbiology*. 2004; 52 (3): 621 – 630.
5. Copin R., Vitry M.A., Mambres D.H., Machelart A., De Trez C., Vanderwinden J.M. et al. Muraille E. In situ microscopy analysis reveals local innate immune response developed around *Brucella* infected cells in resistant and susceptible mice. *PLoSPathog*. 2012; 8 (3): e1002575. doi:10.1371 / journal.ppat.1002575.
6. Hanot Mambres D., Machelart A., Vanderwinden J.M., De Trez C., Ryffel B., Letesson J.J. et al. In situ characterization of splenic *Brucella melitensis* reservoir cells during the chronic phase of infection in susceptible mice. *PLoS ONE*. 2015; 10 (9) e0137835. doi:10.1371/journal.pone.0137835.
7. Dorneles E.M., Teixeira-Carvalho A., Arajo M.S., Sriranganathan N., Lage A.P. Immune response triggered by *Brucella abortus* following infection or vaccination. *Vaccine*. 2015; 33 (31): 3659 – 3666.
8. Ahmed W., Zheng K., Liu Z-F. Establishment of chronic infection: *Brucella*'s stealth strategy. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2016; Volume 6 Article 30 <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2016.00030>.
9. He Y. Analyses of *Brucella* pathogenesis, host immunity, and vaccine targets using systems biology and bioinformatics. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2012; 2 (2) doi:10.3389/fcimb.2012.00002.

10. Olsen S.C., Palmer M.V. Advancement of knowledge of *Brucella* over the past 50 years. *Veterinary Pathology*. 2014; 51 (6): 1076 – 1089.
11. Борисевич И.В., Дармов И.В. ред. Руководство по вакцинопрофилактике особо опасных инфекций. Киров: ООО «Кировская областная типография»; 2011.
12. Enright F.M., Duncan J.R. The pathogenesis and pathobiology of *Brucella* infections in domestic animals. In *Animal Brucellosis*. 1990; Ed.: K.H. Nielsen, J.R. Duncan; Boca Raton; CRC Press: 301 – 320.
13. Barquero-Calvo E., Chaves-Olarte E., Weiss D.S., Guzman-Verri C., Chacon-Diaz C., Rucavado A. et al. *Brucella abortus* uses a stealthy strategy to avoid activation of the innate immune system during the onset of infection. *PLoS One*. 2007; 2 (7): e631.
14. Gee J.M., Kovach M.E., Grippe V.K., Hagius S., Walker J.V., Elzer P.H. et al. Role of catalase in the virulence of *Brucella melitensis* in pregnant goats. *Veterinary Microbiology*. 2004; 102 (1 – 2): 111 – 115.
15. Roop R.M. II, Gaines J.M., Anderson E.S., Caswell C.C., Martin D.W. Survival of the fittest: how *Brucella* strains adapt to their intracellular niche in the host. *Medical Microbiology and Immunology*. 2009; 198 (4): 221 – 238.
16. Xiang Z., Zheng W., He Y. BFP: *Brucella* genome annotation with literature mining and curation. *BMC Bioinformatics*. 2006; 7 (1): 347.
17. Lin Y., Xiang Z., He Y. Ontology-based representation and analysis of host-*Brucella* interactions. *J. of Biomedical Semantics*. 2015; 6 : 37. doi 10.1186/s13326-015-0036-y.
18. O'Callaghan D., Cazevielle C., Allardet-Servent A., Boschirolu M.L., Bourg G., Foulongne V. et al. A homologue of the *Agrobacterium tumefaciens* VirB and *Bordetella pertussis* Ptl type IV secretion systems is essential for intracellular survival of *Brucella suis*. *Molecular Microbiology*. 1999; 33 (6): 1210 – 20.
19. Pei J., Kahl-McDonagh M., Ficht T.A. *Brucella* dissociation is essential for macrophage egress and bacterial dissemination. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2014; 4 (23): 1 – 9.
20. Boschirolu M.L., Ouahrani-Bettache S., Foulongne V., Michaux-Charachon S., Bourg G., Allardet-Servent A. et al. Type IV secretion and *Brucella* virulence. *Veterinary Microbiology*. 2002; 90 (1 – 4): 341 – 348.
21. de Jong M.F., Sun Y.H., den Hartigh A.B., van Dijk J.M., Tsois R.M. Identification of VceA and VceC, two members of the VjbR regulon that are translocated into macrophages by the *Brucella* type IV secretion system. *Molecular Microbiology*. 2008; 70 (6): 1378 – 1396.
22. Jarvis B.W., Harris T.H., Qureshi N., Splitter G.A. Rough lipopolysaccharide from *Brucella abortus* and *Escherichia coli* differentially activates the same mitogen-activated protein kinase signaling pathways for tumor necrosis factor alpha in RAW 264.7 macrophage-like cells. *Infection and Immunity*. 2002; 70 (12): 7165 – 7168.
23. Forestier C., Deleuil F., Lapaque N., Moreno E., Gorvel J.P. *Brucella abortus* lipopolysaccharide in murine peritoneal macrophages acts as a down-regulator of T cell activation. *Immunology*. 2000; 165 (9): 5202 – 10.
24. Burkhardt S., Jimenez de Bagues M.P., Liautard J.P., Kohler S., Analysis of the behavior of eryC mutants of *Brucella suis* attenuated in macrophages. *Infection and Immunity*. 2005; 73 (10): 6782 – 6790.
25. Sangari F.J., Aguero J., Garcia-Lobo J.M. The genes for erythritol catabolism are organized as an inducible operon in *Brucella abortus*. *Microbiology*. 2000; 146 (Pt 2): 487 – 495.
26. Crasta O.R., Folkerts O., Fei Z., Mane S.P., Evans C., Martino-Catt S. et al. Genome sequence of *Brucella abortus* vaccine strain S19 compared to virulent strains yields candidate virulence genes. *PLoS One*. 2008; 3(5): e2193.
27. Baldwin C.L., Goenka R. Host immune responses to the intracellular bacteria *Brucella*: does the bacteria instruct the host to facilitate chronic infection? *Critical Reviews In Immunology*. 2006; 26 (5): 407 – 442.
28. Copin R., De Baetselier P., Carlier Y., Letesson J.J., Muraille E. MyD88 dependent activation of B220(2)CD11b(+)LY-6C(+) dendritic cells during *Brucella melitensis* infection. *Immunology*. 2007; 178: 5182 – 5191.
29. Ko J., Gendron-Fitzpatrick A., Splitter G.A. Susceptibility of IFN regulatory factor-1 and IFN consensus sequence binding protein-deficient mice to brucellosis. *Immunology*. 2002; 168: 2433 – 2440.
30. Murphy E.A., Sathiyaseelan J., Parent M.A., Zou B.X., Baldwin C.L. Interferon-gamma is crucial for surviving a *Brucella abortus* infection in both resistant C57BL/6 and susceptible BALB/c mice. *Immunology*. 2001; 103: 511–518.
31. Stevens M.G., Pugh G.W., Tabatabai L.B. Effects of Gamma-interferon and indomethacin in preventing *Brucella-abortus* infections in mice. *Infection and Immunity*. 1992; 60: 4407 – 4409.
32. Zhan Y.F., Cheers C. Endogenous gamma-interferon mediates resistance to *Brucella-abortus* infection. *Infection and Immunity*. 1993; 61: 4899–4901.
33. Corbel M.J. *Brucellosis: An overview*. Emerging Infectious Diseases. 1997; 3: 213 – 221.
34. Young E.J. An Overview of Human Brucellosis. *Clinical Infectious Diseases*. 1995; 21: 283 – 289.
35. Spink W.W. *The nature of Brucellosis*. Minneapolis: University of Minnesota Press. 1956: 460.
36. Zhan Y.F., Cheers C. Endogenous Interleukin-12 is involved in resistance to *Brucella-abortus* infection. *Infection and Immunity*. 1995; 63: 1387 – 1390.
37. Dornand J., Gross A., Lafont V., Liautard J., Oliaro J., Liautard J.P. The innate immune response against *Brucella* in humans. *Veterinary Microbiology*. 2002; 90 (1 – 4): 383 – 394.
38. Meador V.P., Deyoe B.L. Intracellular localization of *Brucella abortus* in bovine placenta. *Veterinary Pathology*. 1989; 26 (6): 513 – 515.
39. Baldi P.C., Giambartolomei G.H. Immunopathology of *Brucella* infection. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*. 2013; 8 (1): 18 – 26.
40. de Figueiredo P., Ficht T.A., Rice-Ficht A., Rossetti C.A., Adams L.G. Pathogenesis and immunobiology of brucellosis: review of *Brucella*-host interactions. *American Society for Investigative Pathology*. 2015; 185 (6): 1505 – 17.
41. Gomes M.T., Campos P.C., de Almeida L.A., Oliveira F.S., Costa M.M., Marim F.M., Pereira G.S.M., Oliveira S.C. The role of innate immune signals in immunity to *Brucella abortus*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2012; 2 (130). Доступно на: <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2012.00002>.

References

1. Labinskaya A.S., Kostyukova N.N., Ivanova S.M. (ed.). *Direction of Medical Microbiology. Special medical microbiology and etiologic diagnosis of infections*. Book II. Moscow: BIONOM; 2012 (in Russian).
2. Yushhuk N.D., Vengerova Yu.Ya. (ed.). *Infectious diseases: national direction*. Moscow: GEOTAR-Media; 2010 (in Russian).
3. Pei J., Wu Q., Kahl-Mc Donagh M., Ficht T.A. Cytotoxicity in macrophages infected with rough *Brucella* mutants is type IV secretion system dependent. *Infection and Immunity*. 2008; 76(1): 30 – 37.
4. Roop R.M., Bellaire B.H., Valderas M.W., Cardelli J.A. Adaptation of the *Brucellae* to their intracellular niche. *Molecular Microbiology*. 2004; 52 (3): 621 – 630.
5. Copin R., Vitry M.A., Mambres D.H., Machelart A., De Trez C., Vanderwinden J.M. et al. Muraille E. In situ microscopy analysis reveals local innate immune response developed around *Brucella* infected cells in resistant and susceptible mice. *PLoSPathog*. 2012; 8(3): e1002575. doi:10.1371/journal.ppat.1002575.
6. Hanot Mambres D., Machelart A., Vanderwinden J.M., De Trez C., Ryffel B., Letesson J.J. et al. In situ characterization of splenic *Brucella melitensis* reservoir cells during the chronic phase of infection in susceptible mice. *PLoS ONE*. 2015; 10 (9) e0137835. doi:10.1371/journal.pone.0137835.
7. Dorneles E.M., Teixeira-Carvalho A., Arajo M.S., Sriranganathan N., Lage A.P. Immune response triggered by *Brucella abortus* following infection or vaccination. *Vaccine*. 2015; 33 (31): 3659 – 3666.
8. Ahmed W., Zheng K., Liu Z-F. Establishment of chronic infection: *Brucella*'s stealth strategy. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2016; Volume 6 Article 30 <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2016.00030>.
9. He Y. Analyses of *Brucella* pathogenesis, host immunity, and vaccine targets using systems biology and bioinformatics. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2012; 2 (2) doi:10.3389/fcimb.2012.00002.
10. Olsen S.C., Palmer M.V. Advancement of knowledge of *Brucella* over the past 50 years. *Veterinary Pathology*. 2014; 51 (6): 1076 – 1089.
11. Борисевич И.В. Дармов И.В. (ed.). *Direction of vaccinal prevention special danger infection*. Kirov: LTD Kirov regional printing office; 2011 (in Russian).
12. Enright F.M., Duncan J.R. The pathogenesis and pathobiology of *Brucella* infections in domestic animals. In *Animal Brucellosis*. 1990; Ed. By K.H. Nielsen, J.R. Duncan; Boca Raton: CRC Press, 301–320.
13. Barquero-Calvo E., Chaves-Olarte E., Weiss D.S., Guzman-Verri C., Chacon-Diaz C., Rucavado A. Moriyo n I., Moreno E. *Brucella abortus* uses a stealthy strategy to avoid activation of the innate immune system during the onset of infection. *PLoS One*. 2007; 2 (7):e631.
14. Gee J.M., Kovach M.E., Grippe V.K., Hagius S., Walker J.V., Elzer P.H., Roop R.M. Role of catalase in the virulence of *Brucella melitensis* in pregnant goats. *Veterinary Microbiology*. 2004; 102 (1-2): 111–115.
15. Roop 2nd R.M., Gaines J.M., Anderson E.S., Caswell C.C., Martin D.W. Survival of the fittest: how *Brucella* strains adapt to their intracellular niche in the host. *Medical Microbiology and Immunology*. 2009; 198 (4): 221–238.
16. Xiang Z., Zheng W., He Y. BFP: *Brucella* genome annotation with literature mining and curation. *BMC Bioinformatics*. 2006; 7 (1): 347.
17. Lin Y., Xiang Z., He Y. Ontology-based representation and analysis of host-*Brucella* interactions. *J. of Biomedical Semantics*. 2015; 6 :37. – doi 10.1186/s13326-015-0036-y.
18. O'Callaghan D., Cazevielle C., Allardet-Servent A., Boschirolu M.L., Bourg G., Foulongne V. Frutos P., Kulakov Y., Ramuz M.A. A homologue of the *Agrobacterium tumefaciens* VirB and *Bordetella pertussis* Ptl type IV secretion systems is essential for intracellular survival of *Brucella suis*. *Molecular Microbiology*. 1999; 33 (6): 1210–20.

19. Pei J., Kahl-McDonagh M., Ficht T.A. Brucella dissociation is essential for macrophage egress and bacterial dissemination. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2014; 4 (23): 1–9.
20. Boschirolu M.L., Ouahrani-Bettache S., Foulongne V., Michaux-Charachon S., Bourg G., Allardet-Servent A. Cazeville C., Lavigne J.P., Liautard J.P., Ramuz M., O'Callaghan D. Type IV secretion and Brucella virulence. *Veterinary Microbiology*. 2002; 90 (1–4): 341–348.
21. de Jong M.F., Sun Y.H., den Hartigh A.B., van Dijk J.M., Tsolis R.M. Identification of VceA and VceC, two members of the VjbRegulon that are translocated into macrophages by the Brucella type IV secretion system. *Molecular Microbiology*. 2008; 70 (6): 1378–1396.
22. Jarvis B.W., Harris T.H., Qureshi N., Splitter G.A. Rough lipopolysaccharide from *Brucella abortus* and *Escherichia coli* differentially activates the same mitogen-activated protein kinase signaling pathways for tumor necrosis factor alpha in RAW 264.7 macrophage-like cells. *Infection and Immunity*. 2002; 70 (12): 7165–7168.
23. Forestier C., Deleuil F., Lapaque N., Moreno E., Gorvel J.P. *Brucella abortus* lipopolysaccharide in murine peritoneal macrophages acts as a down-regulator of T cell activation. *Immunology*. 2000; 165 (9): 5202–10.
24. Burkhardt S., Jimenez de Bagues M.P., Liautard J.P., Kohler S., Analysis of the behavior of eryC mutants of *Brucella suis* attenuated in macrophages. *Infection and Immunity*. 2005; 73 (10): 6782–6790.
25. Sangari F.J., Aguero J., Garcia-Lobo J.M. The genes for erythritol catabolism are organized as an inducible operon in *Brucella abortus*. *Microbiology*. 2000; 146 (Pt 2): 487–495.
26. Crasta O.R., Folkerts O., Fei Z., Mane S.P., Evans C., Martino-Catt S. et al. Genome sequence of *Brucella abortus* vaccine strain S19 compared to virulent strains yields candidate virulence genes. *PLoS One*. 2008; 3(5):e2193.
27. Baldwin C.L., Goenka R. Host immune responses to the intracellular bacteria *Brucella*: does the bacteria instruct the host to facilitate chronic infection? *Critical Reviews In Immunology*. 2006; 26 (5): 407–442.
28. Copin R., De Baetselier P., Carlier Y., Letesson J.J., Muraille E. MyD88 dependent activation of B220(2)CD11b(+)LY-6C(+) dendritic cells during *Brucella melitensis* infection. *Immunology*. 2007; 178: 5182–5191
29. Ko J., Gendron-Fitzpatrick A., Splitter G.A. Susceptibility of IFN regulatory factor-1 and IFN consensus sequence binding protein-deficient mice to brucellosis. *Immunology*. 2002; 168: 2433–2440.
30. Murphy E.A., Sathiyaseelan J., Parent M.A., Zou B.X., Baldwin C.L. Interferon-gamma is crucial for surviving a *Brucella abortus* infection in both resistant C57BL/6 and susceptible BALB/c mice. *Immunology*. 2001; 103: 511–518.
31. Stevens M.G., Pugh G.W., Tabatabai L.B. Effects of Gamma-interferon and indomethacin in preventing *Brucella-abortus* infections in mice. *Infection and Immunity*. 1992; 60: 4407–4409.
32. Zhan Y.F., Cheers C. Endogenous gamma-interferon mediates resistance to *Brucella-abortus* infection. *Infection and Immunity*. 1993; 61: 4899–4901.
33. Corbel M.J. Brucellosis: An overview. *Emerging Infectious Diseases*. 1997; 3: 213–221.
34. Young E.J. An Overview of Human Brucellosis. *Clinical Infectious Diseases*. 1995; 21: 283–289.
35. Spink W.W. The nature of Brucellosis. Minneapolis: University of Minnesota Press. 1956; 460 p.
36. Zhan Y.F., Cheers C. Endogenous Interleukin-12 is involved in resistance to *Brucella-abortus* infection. *Infection and Immunity*. 1995; 63: 1387–1390.
37. Dornand J., Gross A., Lafont V., Liautard J., Oliaro J., Liautard J.P. The innate immune response against *Brucella* in humans. *Veterinary Microbiology*. 2002; 90 (1-4): 383–394.
38. Meador V.P., Deyoe B.L. Intracellular localization of *Brucella abortus* in bovine placenta. *Veterinary Pathology*. 1989; 26(6): 513-515.
39. Baldi P.C., Giambartolomei G.H. Immunopathology of *Brucella* infection. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*. 2013; 8 (1): 18–26.
40. de Figueiredo P., Ficht T.A., Rice-Ficht A., Rossetti C.A., Adams L.G. Pathogenesis and immunobiology of brucellosis: review of *Brucella*-host interactions. *American Society for Investigative Pathology*. 2015; 185 (6): 1505–1517.
41. Gomes M.T., Campos P.C., de Almeida L.A., Oliveira F.S., Costa M.M., Marim F.M. et al. The role of innate immune signals in immunity to *Brucella abortus*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2012; 2 (130), – <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2012.00002>. Enright F.M., Duncan J.R. The pathogenesis and pathobiology of *Brucella* infections in domestic animals. In *Animal Brucellosis*. 1990; Ed.: K.H. Nielsen, J.R. Duncan; Boca Raton; CRC Press: 301 – 320.
42. Barquero-Calvo E., Chaves-Olarte E., Weiss D.S., Guzman-Verri C., Chacon-Diaz C., Rucavado A. et al. *Brucella abortus* uses a stealthy strategy to avoid activation of the innate immune system during the onset of infection. *PLoS One*. 2007; 2 (7): e631.
43. Gee J.M., Kovach M.E., Grippe V.K., Hagius S., Walker J.V., Elzer P.H. et al. Role of catalsase in the virulence of *Brucella melitensis* in pregnant goats. *Veterinary Microbiology*. 2004; 102 (1 – 2): 111 – 115.
44. Roop R.M. II, Gaines J.M., Anderson E.S., Caswell C.C., Martin D.W. Survival of the fittest: how *Brucella* strains adapt to their intracellular niche in the host. *Medical Microbiology and Immunology*. 2009; 198 (4): 221 – 238.
45. Xiang Z., Zheng W., He Y. BPP: *Brucella* genome annotation with literature mining and curation. *BMC Bioinformatics*. 2006; 7 (1): 347.
46. Lin Y., Xiang Z., He Y. Ontology-based representation and analysis of host-*Brucella* interactions. *J. of Biomedical Semantics*. 2015; 6 : 37. doi 10.1186/s13326-015-0036-y.
47. O'Callaghan D., Cazeville C., Allardet-Servent A., Boschirolu M.L., Bourg G., Foulongne V. et al. A homologue of the *Agrobacterium tumefaciens* VirB and *Bordetella pertussis* Ptl type IV secretion systems is essential for intracellular survival of *Brucella suis*. *Molecular Microbiology*. 1999; 33 (6): 1210 – 20.
48. Pei J., Kahl-McDonagh M., Ficht T.A. Brucella dissociation is essential for macrophage egress and bacterial dissemination. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2014; 4 (23): 1 – 9.
49. Boschirolu M.L., Ouahrani-Bettache S., Foulongne V., Michaux-Charachon S., Bourg G., Allardet-Servent A. et al. Type IV secretion and *Brucella* virulence. *Veterinary Microbiology*. 2002; 90 (1 – 4): 341 – 348.
50. de Jong M.F., Sun Y.H., den Hartigh A.B., van Dijk J.M., Tsolis R.M. Identification of VceA and VceC, two members of the VjbR regulon that are translocated into macrophages by the *Brucella* type IV secretion system. *Molecular Microbiology*. 2008; 70 (6): 1378 – 1396.
51. Jarvis B.W., Harris T.H., Qureshi N., Splitter G.A. Rough lipopolysaccharide from *Brucella abortus* and *Escherichia coli* differentially activates the same mitogen-activated protein kinase signaling pathways for tumor necrosis factor alpha in RAW 264.7 macrophage-like cells. *Infection and Immunity*. 2002; 70 (12): 7165 – 7168.
52. Forestier C., Deleuil F., Lapaque N., Moreno E., Gorvel J.P. *Brucella abortus* lipopolysaccharide in murine peritoneal macrophages acts as a down-regulator of T cell activation. *Immunology*. 2000; 165 (9): 5202 – 10.
53. Burkhardt S., Jimenez de Bagues M.P., Liautard J.P., Kohler S., Analysis of the behavior of eryC mutants of *Brucella suis* attenuated in macrophages. *Infection and Immunity*. 2005; 73 (10): 6782 – 6790.
54. Sangari F.J., Aguero J., Garcia-Lobo J.M. The genes for erythritol catabolism are organized as an inducible operon in *Brucella abortus*. *Microbiology*. 2000; 146 (Pt 2): 487 – 495.
55. Crasta O.R., Folkerts O., Fei Z., Mane S.P., Evans C., Martino-Catt S. et al. Genome sequence of *Brucella abortus* vaccine strain S19 compared to virulent strains yields candidate virulence genes. *PLoS One*. 2008; 3(5): e2193.
56. Baldwin C.L., Goenka R. Host immune responses to the intracellular bacteria *Brucella*: does the bacteria instruct the host to facilitate chronic infection? *Critical Reviews In Immunology*. 2006; 26 (5): 407 – 442.
57. Copin R., De Baetselier P., Carlier Y., Letesson J.J., Muraille E. MyD88 dependent activation of B220(2)CD11b(+)LY-6C(+) dendritic cells during *Brucella melitensis* infection. *Immunology*. 2007; 178: 5182 – 5191.
58. Ko J., Gendron-Fitzpatrick A., Splitter G.A. Susceptibility of IFN regulatory factor-1 and IFN consensus sequence binding protein-deficient mice to brucellosis. *Immunology*. 2002; 168: 2433 – 2440.
59. Murphy E.A., Sathiyaseelan J., Parent M.A., Zou B.X., Baldwin C.L. Interferon-gamma is crucial for surviving a *Brucella abortus* infection in both resistant C57BL/6 and susceptible BALB/c mice. *Immunology*. 2001; 103: 511–518.
60. Stevens M.G., Pugh G.W., Tabatabai L.B. Effects of Gamma-interferon and indomethacin in preventing *Brucella-abortus* infections in mice. *Infection and Immunity*. 1992; 60: 4407 – 4409.
61. Zhan Y.F., Cheers C. Endogenous gamma-interferon mediates resistance to *Brucella-abortus* infection. *Infection and Immunity*. 1993; 61: 4899–4901.
62. Corbel M.J. Brucellosis: An overview. *Emerging Infectious Diseases*. 1997; 3: 213 – 221.
63. Young E.J. An Overview of Human Brucellosis. *Clinical Infectious Diseases*. 1995; 21: 283 – 289.
64. Spink W.W. The nature of Brucellosis. Minneapolis: University of Minnesota Press. 1956; 460.
65. Zhan Y.F., Cheers C. Endogenous Interleukin-12 is involved in resistance to *Brucella-abortus* infection. *Infection and Immunity*. 1995; 63: 1387 – 1390.
66. Dornand J., Gross A., Lafont V., Liautard J., Oliaro J., Liautard J.P. The innate immune response against *Brucella* in humans. *Veterinary Microbiology*. 2002; 90 (1 – 4): 383 – 394.
67. Meador V.P., Deyoe B.L. Intracellular localization of *Brucella abortus* in bovine placenta. *Veterinary Pathology*. 1989; 26 (6): 513 – 515.
68. Baldi P.C., Giambartolomei G.H. Immunopathology of *Brucella* infection. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*. 2013; 8 (1): 18 – 26.
69. de Figueiredo P., Ficht T.A., Rice-Ficht A., Rossetti C.A., Adams L.G. Pathogenesis and immunobiology of brucellosis: review of *Brucella*-host interactions. *American Society for Investigative Pathology*. 2015; 185 (6): 1505 – 17.
70. Gomes M.T., Campos P.C., de Almeida L.A., Oliveira F.S., Costa M.M., Marim F.M., Pereira G.S.M., Oliveira S.C. The role of innate immune signals in immunity to *Brucella abortus*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2012; 2 (130). Available at: <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2012.00002>.