مجله علوم آزمایشگاهی، دوره هشتم(شماره ۵)زمستان ۹۳

تحقیقی

دارای رتبه علمی-پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

ارزیابی IgG اختصاصی سرمی و پاسخ سایتوکینی لنفوسیت های خون محیطی بیماران مبتلا به بروسلوز نسبت به پروتئین سطحی ۳۱ کیلودالتون نوترکیب، یک کاندیدای واکسن بروسلا

نیما خرم‌آبادی
دانشجوی دکتری باکتری شناسی، گروه باکتری شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
اشرف محبتی مبارز
دانشیار باکتری شناسی، گروه باکتری شناسی،دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
بهمن تبرایی
استادیار میکروب شناسی، بخش واکسن‌های باکتریایی، انستیتوپاستور ایران، تهران، ایران
مهرداد بهمنش
دانشیار ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
فاطمه اطیابی
استاد داروسازی، مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران
هانیه آقابابا
کارشناس ارشد باکتری‌شناسی پزشکی، گروه باکتری شناسی،دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
نویسنده مسئول: اشرف محبتی مبارز
پست الکترونیک: mmmobarez@modares.ac.ir
تلفن : ۰۲۱۸۲۸۳۸۶۲
آدرس: دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

دریافت: ۹۲/۶/۹
ویرایش پایانی: ۹۲/۷/۵
پذیرش: ۹۲/۷/۸

چکیده

زمینه و هدف: *یکی از پروتئین‌های بروسلا که در تمامی سویه ها حضور دارد، پروتئین سطحی ۳۱ کیلودالتونی است که می‌تواند هدف مناسبی جهت ایمن‌سازی یا تشخیص محسوب شود.*

روش بررسی: *در مطالعه حاضر، از این پروتئین که به صورت نوترکیب در سیستم بیانی pET28a(+) تولید شده، جهت ردیابی IgG اختصاصی به روش الایزا، در سرم افراد مبتلا به بروسلوز که توسط کشت تأیید شده بودند استفاده شد. از سوی دیگر، پاسخ سایتوکاینی لمنوسیت‌های خون محیطی افراد مبتلا نسبت به این پروتئین در شرایط کشت سلول مورد ارزیابی قرار گرفت.*

یافته ها: *نتایج حاصل حاکی از میزان قابل توجه آنتی بادی‌های IgG نسبت به پروتئین سطحی ۳۱ کیلو دالتونی بروسلا در سرم افراد بیمار می‌باشد. ارزیابی پاسخ لنفوسیتی بیماران نیز نشان‌دهنده پاسخ قابل توجه IFN-γ و IL-12 نسبت به این پروتئین است.*

نتیجه گیری: *پروتئین سطحی ۳۱ کیلو دالتون، قادر به برانگیختن پاسخ‌های هومورال و سایتوکاینی حین عفونت در انسان است و می‌تواند در طراحی روش‌های ایمونیزاسیون و یا سیستم‌های تشخیصی سرولوژی کاربرد داشته باشد.*

واژه های کلیدی: *بروسلوز، پروتئین سطحی ۳۱ کیلودالتونی، بروسلا، سایتوکاین*

آدرس مقاله
خرم آبادی ن، محبتی مبارز ا، تبرایی ب، بهمنش م، اطیابی ف، آقابابا ه" ارزیابی IgG اختصاسی سرمی و پاسخ سایتوکینی لنفوسیت های خون محیطی بیماران مبتلا به بروسلوز نسبت به پروتئین سطحی ۳۱ کیلودالتون نوترکیب، یک کاندیدای واکسن بروسلا" مجله علوم آزمایشگاهی، زمستان ۱۳۹۳، دوره هشتم (شماره ۵):۳۶-۴۲

مقدمه

بروسلا یک باکتری بیماریزای داخل سلولی اختیاری است و گونه‌های مختلف آن عامل بیماری بروسلوز هستند که جزو شایع ترین بیماری‌های مشترک بین انسان و دام می‌باشد (۱). پیشگیری از این بیماری در میان دام‌ها بر پایه استفاده از واکسن‌های تخفیف حدت یافته است که ایمنی حفاظتی بسیار قابل توجهی در میزبان حیوانی ایجاد می‌نماید ولی پاسخ ایجاد شده با روش‌های تشخیص سرولوژی تداخل دارند. آنتی بادی‌های تشکیل شده حین ایمن‌سازی تشخیص دام‌های واکسینه از دام‌های عفونی را دشوار می‌سازد(۲). از سویی دیگر این سویه‌های واکسن برای انسان به شدت بیماریزا بوده و قادر به ایجاد بیماری علامت‌دار می‌باشند و هیچ واکسنی نیز جهت پیشگیری از بیماری انسانی وجود ندارد. تشخیص بیماری نیز به طور رایج از طریق سرولوژی انجام می‌گیرد ولی کشت به عنوان روش استاندارد اصلی و نیز روش‌های ملکولی به خصوص Real-time PCR نیز در دسترس می‌باشند. عمده‌ترین اشکال روش‌های سرولوژی در تشخیص بروسلوز، وابستگی این روش‌ها به LPS باکتری به عنوان آنتی‌ژن غالب است که با ارگانیسم‌های مختلفی واکنش متقاطع دارد (۳-۵). روش‌های مبتنی بر الایزای اختصاصی آنتی‌ژن‌های پروتئینی نیز طراحی شده ولی کماکان نیاز به بهینه‌سازی و ارتقاء قدرت تشخیص و حساسیت دارند. طراحی روش‌های ایمن‌سازی مؤثر که فاقد مشکلات فعلی واکسن‌های تخفیف حدت یافته باشند و نیز ابداع روش‌های تشخیصی سریع که حساسیت و اختصاصیت قابل قبولی داشته باشند، به بررسی اجزاء آنتی‌ژنی سلول باکتری و ارزیابی پاسخ‌های میزبان به آنتی‌ژن مورد نظر حین عفونت نیازمند است (۶). پروتئین سطحی ۳۱ کیلودالتون بروسلا (BCSP31) یکی از آنتی‌ژن‌هایی است که در غشای خارجی حضور داشته و در تمامی سویه‌های باکتری مشترک می‌باشد (۷-۹). بررسی اینکه آیا حین عفونت میزبان انسانی با این باکتری، BCSP31 با سیستم ایمنی میزبان برخورد می‌کند و نوع و کیفیت پاسخ چگونه است، در تعیین قابلیت کاربرد این پروتئین در تشخیص سرولوژی یا طراحی واکسن اهمیت دارد. در بروسلوز، پاسخ آنتی‌بادی به ویژه IgG جهت تشخیص دارای اهمیت است که روش مرسوم ارزیابی آن، الایزا می‌باشد (۳،۱۰،۱۱). قابلیت القای پاسخ‌های ایمنی سلولی جهت طراحی واکسن مورد توجه است که ارزیابی سایتوکاین‌ها در کشت لنفوسیت‌های افراد مبتلا که با آنتی‌ژن هدف تحریک شده باشند یک روش قابل اتکا جهت بررسی آن می‌باشد (۱۲-۱۴). هدف از مطالعه حاضر بررسی حضور آنتی‌بادی‌های اختصاصی سرمی و نیز پاسخ‌های اختصاصی سایتوکاینی لنفوسیت‌های میزبان انسانی نسبت به این آنتی‌ژن پروتئینی بود که در نهایت مشخص گردد آنتی‌ژن مذکور قابلیت استفاده در تحقیقات آتی سرولوژی و ایمن‌سازی را دارد.

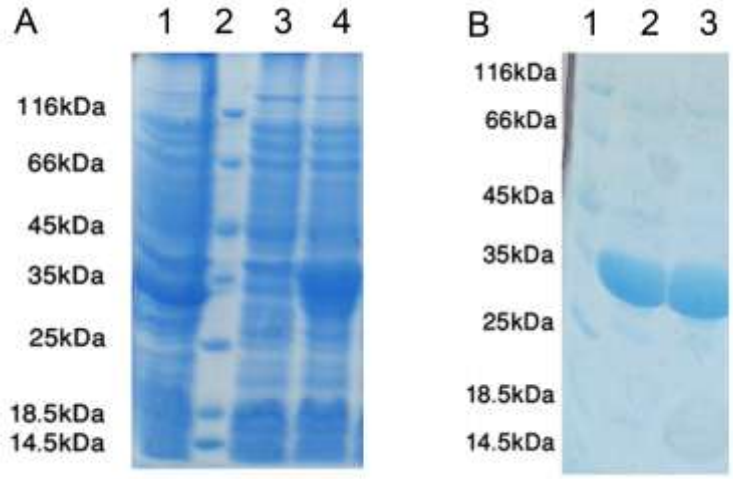
روش بررسی

پروتئین نوترکیب BCSP31 (rBCSP31) پیش از این توسط همین تیم تهیه شده بود (اطلاعات در حال انتشار). بطور خلاصه، ژن پروتئین سطحی ۳۱ کیلودالتون بروسلا (شماره دست‌یابی embl M20404) با استفاده از پرایمرهای 5’ -ACTGGATCCATGAAATTCGGAAGC -3 و 5’-CATTCTCGAGTTATTTCAGCACGC -3 از ژنوم *بروسلا ابورتوس* S19 تکثیر و سپس در بین جایگاه های *Bam*HI و *Xho*I در پلاسمید بیانی pET28a(+) تکثیر شد. پلاسمید نوترکیب وارد سویه بیانی *E. coli* BL21 شد و پس از رشد در محیط مایع LB، تولید پروتئین با افزودن ۱ میلی‌مولار IPTG القا شد. سلول‌های باکتری پس از ۴ ساعت گرمخانه گذاری متعاقب القاء، با سانتریفیوژ جمع آوری و دو بار با سرم نمکی ۰/۹ درصد شست شو داده شدند. توده سلولی حاصله در بافر حاوی اوره ۸ مولار B (100mM NaH2PO4, 10mM Tris-HCl, and 8M urea;) و pH ۸ حل و پس از جداسازی اجسام باقیمانده نامحلول سلول با رزین نیکل مجاور شد. مخلوط حاصل پس از یک ساعت مجاورت همراه با هم‌خوردن مداوم در دمای اتاق به ستون پلی‌استایرنی منتقل شد. رزین با بافر C (100mM NaH2PO4, 10mM Tris-HCl, and 8M urea;) و pH ۶ شست شو داده شد. حذف اوره با استفاده از بافرهای حاوی شیب کاهشی غلظت اوره (۸، ۶، ۴، ۲، ۱ و ۰ مولار اوره) انجام و در نهایت پروتئین ها با استفاده از محلول

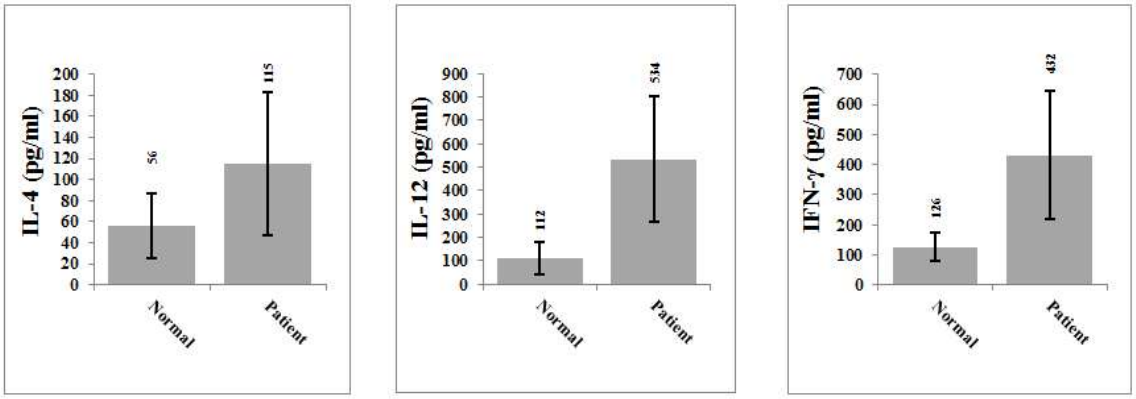
ایمیدازول ۲۵۰ میلی‌مولار از ستون جدا و جمع آوری شدند. برای حذف ایمیدازول، محلول پروتئینی در برابر بافر فسفات نمکی (pH ۷/۵) به مدت یک شب دیالیز شد. خلوص و مقدار پروتئین نوترکیب به ترتیب با روش SDS-PAGE و اسپکتروفوتومتری تعیین شد.

سرم ۱۵ بیمار که ابتدا با روش آگلوتیناسیون لوله‌ای سرم و سپس کشت تشخیص بروسلوز برای آنها محرز شده بود جمع‌آوری و در ۷۰- نگهداری شد. سرم ۱۰ فرد داوطلب سالم که سابقه بیماری بروسلوز را نداشتند و سرم آنها میزان محسوسی برای آزمایش رایت را نشان نمی‌داد نیز جمع آوری شدند. ابتدا از آنتی‌سرم اختصاصی rBCSP31 که در خرگوش ماده نیوزلندی تهیه شده بود (در همین آزمایشگاه) جهت تعیین مقدار بهینه برای بارگذاری پلیت‌های الایزا استفاده شد. مقدار ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر به عنوان غلظت بهینه تعیین شد (اطلاعات نشان داده نشده است). ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر از rBCSP31 در بافر بی‌کربنات تهیه و ۱۰۰ میکرولیتر از آن به چاهک‌های پلیت‌های الایزا وارد و پلیت‌ها یک شب در ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. متعاقب آن، همه پلیت‌ها، سه بار با بافر فسفات نمکی (PBS; pH 7.4) حاوی ۰/۰۵ درصد توئین ۲۰ (بافر PBS-T) شست شو داده شدند. جایگاه‌های فاقد پروتئین همه چاهک‌ها با افزودن ۳۰۰ میکرولیتر از محلول ۱۰ درصد آلبومین سرم گاوی در PBS و نگهداری به مدت ۱ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد مسدود شدند. سپس شست شو با شرایطی که ذکر شد، سه مرتبه انجام گرفت. سرم‌های افراد سالم و بیماران هر کدام به صورت تکرار دوگانه و با رقت ۱:۲۰ در چاهک اول قرار گرفته و سپس رقت‌سازی متوالی ۱:۲ از هر نمونه در پلیت الایزا انجام گرفت. پلیت‌ها در ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲ ساعت روی صفحه متحرک دورانی نگهداری شدند. پس از طی این مدت، پلیت‌ها توسط PBS-T سه بار شست شو داده شده و متعاقب آن ۱۰۰ میکرولیتر آنتی‌بادی ضد IgG انسانی کونژوگه با HRP با رقت ۱:۵۰۰۰ به هر چاهک اضافه و پلیت‌ها مجدداً با شرایط فوق به مدت ۱ ساعت نگهداری شدند. پس از انکوباسیون، پلیت‌ها با PBS-T شسته شده و سوبسترای آنزیم به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به هر چاهک اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه از انجام واکنش رنگزایی، ۵۰ میکرولیتر اسید سولفوریک ۱مولار به هر چاهک اضافه و جذب نوری چاهک‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر ثبت شد. از ۱۰ فرد بیمار مبتلا به بروسلوز و ۱۰ فرد سالم، به طور همزمان ۱۰ میلی‌لیتر خون وریدی در لوله هپارینه گرفته شد. نمونه‌های خون در دور ۱۵۰۰ برای ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و پلاسما از سلول‌های خونی جدا شد. به محتوای سلولی حاصل از هر لوله، بافر هیپوتونیک لیز گلبول‌های قرمز اضافه شد و پس از ۱۲ دقیقه مجاورت با افزودن PBS حاوی ۵ درصد FBS خنثی و سپس در g× ۳۵۰ برای مدت ۱۵ دقیقه در ۴ درجه سانتیگراد، سانتریفیوژ شد. سلول‌های سفید لوله‌ها با PBS همراه با ۵ درصد FBS دو بار شست شو داده شده و در نهایت در محیط RPMI کامل حاوی ۱۰ درصد FBS، اسیدهای آمینه غیر ضروری، پنیسیلین-استرپتومایسین و گلوتامین معلق شدند.

تعداد سلول‌های لنفوسیتی شمارش و سوسپانسیون های یکنواخت ۴ میلیون سلول در میلی‌لیتر تهیه و به مقدار ۱ میلی‌لیتر در چاهک‌های پلیت کشت سلول ۲۴ خانه‌ای به صورت دوگانه کشت داده شد. به هر چاهک غلظت نهایی ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر از پروتئین نوترکیب اضافه شد. کشت‌ها در انکوباتور با اتمسفر حاوی ۵ درصد CO_2 برای ۷۲ ساعت نگهداری شدند. سپس بخش رویی کشت سلول‌ها جمع آوری، سانتریفیوژ و در ۷۰- نگهداری شد. میزان پاسخ IFN-γ، IL-12 و IL-4 در کشت‌های سلولی با کیت‌های سایتوکاین انسانی (R&D) اندازه‌گیری شد.



شکل۱- سویه *E. coli* BL21 فاقد پلاسمید نوترکیب؛ ۲، مارکر پروتئین؛ ۳، سویه *E. coli* BL21 نوترکیب و القا نشده؛ ۳ سویه *E. coli* BL21 نوترکیب، ٤ ساعت پس از القا. (B) تخلیص پروتئین نوترکیب سطحی ۳۱ کیلودالتون بروسلا (rBCSP31)؛ ۱ مارکر پروتئین؛ ۲ و ۳، فراکسیون تخلیص شده rBCSP31.



شکل۳- سطح تولید سایتوکاین‌ها در پاسخ به تحریک کشت لنفوسیت‌های خون محیطی با rBCSP31.

داده‌های آماری به روش ANOVA یک طرفه، نشان می‌دهد پاسخ IFN-γ و IL-12 نسبت به تحریک با rBCSP31 اختلاف معنی‌داری را بین افراد بیمار و سالم نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$) ولی اختلاف معنی‌داری در سطح تولیدی IL-4 دیده نشد.

بحث

تعداد زیادی پروتئین در غشای خارجی بروسلاها وجود دارد که پیش از این از لحاظ وزن ملکولی دسته‌بندی شده‌اند (۱۵). در پاسخ به عفونت بروسلا تیتر بالایی از آنتی‌بادی علیه LPS باکتری ایجاد می‌شود که در مورد سویه‌های واکسن نیز صـــدق می‌کند. واکنش متقاطع سرولوژی بین LPS بروسلا و گونه‌های باکتریایی از جمله *یرسینیا انتروکولیتیکا* O:9 و *ویبریو کلرا*، سالمونلاها و *اشریشیا کلی* O157 تفسیر آزمایشات سرولوژی جهت تشخیص بروسلوز را با دشواری مواجه می‌سازد. از این رو بررسی اجزای آنتی‌ژنی دیگر پیکره بروسلاها می‌تواند با روشن کردن ظرفیت‌های قابل استفاده آنها در تشخیص، تا حدی راهگشای مشکلات موجود باشد. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نیز نشان می‌دهد که حین عفونت بروسلوز مقادیر قابل ردیابی از آنتی‌بادی علیه BCSP31 در بدن فرد شکل می‌گیرد. حضور آنتی‌بادی علیه این پروتئین، نمایانگر دسترسی سیستم ایمنی به آنتی‌ژن مورد نظر بوده که شاخصـــی مهم در طراحی واکسن علیه عامل عفونت می‌باشد.

همچنین اثبات حضور آنتی‌بادی‌های اختصاصی علیه rBCSP31 نشان می‌دهد که این پروتئین می‌تواند پایه‌ای برای مطالعات آتی سرولوژی جهت ابداع روش‌های تشخیصی باشد. Tan و همکاران در ۲۰۱۲ از پروتئین VirB5 جهت تشخیص سرولوژی بروسلوز به روش الایزا استفاده نمودند (۱۶). LIM و همکاران در سال ۲۰۱۲ از پروتئین غشای خارجی ۲۸ کیلودالتونی نوترکیب جهت ارزیابی سرولوژیکی گاوهای مبتلا به بروسلوز استفاده نمودند (۱۷). نتایج آنها نشان داد این پروتئین غشای خارجی پتانسیل قابل قبولی جهت استفاده در روش‌های تشخیصی را دارد.Tiwari و همکارانش نیز در ۲۰۱۳ مجددا از Omp28 و Omp31 به عنوان یک روش تشخیصی استفاده نمودند (۱۶). از سویه های واکسن نمی‌توان جهت ایمن‌سازی انسان استفاده نمود. ابداع واکسن‌های مؤثر برای پیشگیری از بروسلوز انسانی نیازمند شناخت برهم‌کنش اجزای پاتوژن و سیستم ایمنی میزبان است. آگاهی نسبت به پاسخ‌هایی که علیه یک جزء آنتی‌ژنی خاص ایجاد می‌شود در طراحی سیستم‌های ایمن‌سازی می‌تواند نقشی کلیدی ایفا نماید. بررسی پاسخ‌های میزبان از طریق مطالعه برهم‌کنش سلول‌های لنفوسیت با آنتی‌ژن‌های بروسلا معیاری برای پی‌بردن به نوع عملکرد ایمنی میزبان علیه عفونت است (۱۸). نتایج مطالعه حاضر حاکی از قدرت برانگیختن پاسخ اینترفرون گاما و اینترلوکین ۱۲ لنفوسیتی توسط rBCSP31 می‌باشد. این دو سایتوکاین در تقویت پاسخ‌های ایمنی سلولی نقش داشته و پاکسازی ارگانیسم بیماریزا از بدن فرد مبتلا نیز وابسته به این دست پاسخ‌هاست. به نظر می‌رسد rBCSP31 عامل مناسبی جهت مطالعات واکسن بروسلا باشد. Brooks-Worrell و همکاران در ۱۹۹۲ از عصاره آنتی‌ژنی استخراج شده از سویه ۱۹ *بروسلا ابورتوس* جهت ردیابی نوع پاسخ‌ها بهره گرفتند (۱۹). Kazak و همکاران در سال ۲۰۱۰ پاسخ سایتوکاینی لنفوسیت‌های خون محیطی را نسبت به L7/L12 ارزیابی نمودند. پاسخ IFN-γ و نیز $CD8^+$ حاکی از این است که در افراد آلوده نسبت به این پروتئین مهم پاسخ قابل توجهی پدید می‌آید که با پاسخ‌های حاصل از ارزیابی های مدل حیوانی که پیش از این انجام شده بود نیز هم‌خوانی دارد و این پروتئین می‌تواند در طراحی واکسن‌ها کاربرد داشته باشد (۲۰, ۲۱).

نتیجه گیری

پروتئین BCSP31 بروسلا، در حین عفونت بیمار با باکتری، در دسترس سیستم ایمنی میزبان قرار می‌گیرد و علیه آن پاسخ‌های آنتی‌بادی و سایتوکاینی ایجاد می‌گردد. نوع و سطح پاسخ‌های ایجاد شده نشان می‌دهد این پروتئین قابلیت تحریک پاسخ‌های مناسب ایمنی جهت مقابله با عفونت بروسلا را دارا می‌باشد و بنابراین می‌تواند در مطالعات واکسن مورد استفاده قرار گیرد. از سویی سطح پاسخ آنتی‌بادی هم امکان استفاده از این آنتی‌ژن در طراحی روش‌های تشخیصی سرولوژی را مطرح می‌سازد.

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان نامه دکتری بخش باکتری‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس استخراج شده و با حمایت مالی این دانشگاه به انجام رسیده است.

References

1. Diaz Aparicio E. *Epidemiology of brucellosis in domestic animals caused by Brucella melitensis, Brucella suis and Brucella abortus.* Rev Sci Tech. 2013; 32(1): 53-60.

2. Gonzalez D, Grillo MJ, De Miguel MJ, Ali T, Arce-Gorvel V, Delrue RM, et al. *Brucellosis vaccines: assessment of Brucella melitensis lipopolysaccharide rough mutants defective in core and O-polysaccharide synthesis and export.* PLoS One. 2008; 3(7): e2760.

3.Pabuccuoglu O, Ecemis T, El S, Coskun A, Akcali S, Sanlidag T. *Evaluation of serological tests for diagnosis of brucellosis.* Jpn J Infect Dis. 2011; 64(4): 272-6.

4.Ozdemir M, Feyzioglu B, Kurtoglu MG, Dogan M, Dagi HT, Yuksekkaya S, et al. *A comparison of immuncapture agglutination and ELISA methods in serological diagnosis of brucellosis*. Int J Med Sci. 2011; 8(5): 428-32.

5.Nielsen K, Yu WL. *Serological diagnosis of brucellosis*. Prilozi. 2010; 31(1): 65-89.

6.Gomez G, Adams LG, Rice-Ficht A, Ficht TA. *Host-Brucella interactions and the Brucella genome as tools for subunit antigen discovery and immunization against brucellosis.* Frontiers in cellular and infection microbiology. 2013; 3: 17.

7.Zhang L, Wu XA, Zhang FL, An CH, Sun YX, Bai WT, et al. *Soluble expression and purification of Brucella cell surface protein (BCSP31) of Brucella melitensis and preparation of anti-BCSP31 monoclonal antibodies.* Mol Biol Rep. 2012; 39(1): 431-8.

8.Bounaadja L, Albert D, Chenais B, Henault S, Zygmunt MS, Poliak S, et al. *Real-time PCR for identification of Brucella spp.: a comparative study of IS711, bcsp31 and per target genes.* Vet Microbiol. 2009; 137(1-2): 156-64.

9.Cao X, Qiu C, Zhou J, Lin G. *High-dissolved expression of BCSP31 gene of Brucella abortus in E. coli.* Journal of Jilin Agricultural University. 2007; 29(6): 683-6.

10.Ulu-Kilic A, Metan G, Alp E. *Clinical presentations and diagnosis of brucellosis*. Recent patents on anti-infective drug discovery. 2013; 8(1): 34-41.

11.Ko KY, Kim JW, Her M, Kang SI, Jung SC, Cho DH, et al. *Immunogenic proteins of Brucella abortus to minimize cross reactions in brucellosis diagnosis.* Vet Microbiol. 2012; 156(3-4): 374-80.

12.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.

13.Shumilov KV, Sklyarov O, Klimanov A. *Designing vaccines against cattle brucellosis.* Vaccine. 2010; 28 (Suppl 5): F31-4.

14.Ficht TA, Kahl-McDonagh MM, Arenas-Gamboa AM, Rice-Ficht AC. *Brucellosis: the case for live, attenuated vaccines*. Vaccine. 2009; 27(Suppl 4): D40-3.

15.Verstreate DR, Creasy MT, Caveney NT, Baldwin CL, Blab MW, Winter AJ. *Outer membrane proteins of Brucella abortus: isolation and characterization.* Infect Immun. 1982; 35(3): 979-89.

16. Tiwari S, Kumar A, Thavaselvam D, Mangalgi S, Rathod V, Prakash A, et al. *Development and comparative evaluation of a plate enzyme-linked immunosorbent assay based on recombinant outer membrane antigens Omp28 and Omp31 for diagnosis of human brucellosis.* Clin Vaccine Immunol. 2013; 20(8): 1217-22.

17.Lim JJ, Kim DH, Lee JJ, Kim DG, Min W, Lee HJ, et al. *Evaluation of recombinant 28 kDa outer membrane protein of Brucella abortus for the clinical diagnosis of bovine brucellosis in Korea*. J Vet Med Sci. 2012; 74(6): 687-91.

18.Weynants V, Walravens K, Didembourg C, Flanagan P, Godfroid J, Letesson JJ. *Quantitative assessment by flow cytometry of T-lymphocytes producing antigen-specific gamma-interferon in Brucella immune cattle. Vet Immunol Immunopathol*. 1998; 66(3-4): 309-20.

19.Brooks-Worrell BM, Splitter GA. *Sodium dodecyl sulfate- and salt-extracted antigens from various Brucella species induce proliferation of bovine lymphocytes.* Infect Immun. 1992; 60(5): 2136-8.

20.Kazak E, Oliveira SC, Goral G, Akalin H, Yilmaz E, Heper Y, et al. *Brucella abortus L7/L12 recombinant protein induces strong Th1 response in acute brucellosis patients.* Iran J Immunol. 2010; 7(3): 132-41.

21.Oliveira SC, Zhu Y, Splitter GA. *Recombinant L7/L12 ribosomal protein and gamma-irradiated Brucella abortus induce a T-helper 1 subset response from murine CD4+ T cells.* Immunology. 1994; 83(4): 659-64.

rBCSP31 Antibody Response in Patients with Brucellosis: A Candidate for Brucella Vaccine

Khoramabadi, N. (PhD)
Assistant Professor of Medical Bacteriology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Mohabati Mobarez, A. (PhD)
Associate Professor of Bacteriology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Tabaraie, B. (PhD)
Assistant Professor of Microbiology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

Behmanesh, M. (PhD)
Associate Professor of Genetics, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Atyabi, F. (PhD)
Professor of Pharmacology, Nanotechnology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Aghababa, H. (MSc)
MSc of Bacteriology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Corresponding Author:
Mohabati Mobarez, A.

Email: mmmobarez@modares.ac.ir

Received: 31 Aug 2013
Revised: 27 Sep 2013
Accepted: 30 Sep 2013

Abstract

Background and Objective: One of the proteins shared in all strains of Brucella is 31 kDa surface protein (BCPS31) that could be an appropriate target for immunization and serological diagnosis.

Material and Methods: In the present study, BCSP31 produced as a recombinant protein in pET28a (+) expression system was utilized, using ELISA, to detect trace specific antibody (IgG) in brucellosis patients' serum that was confirmed by culture. We also evaluated cytokine response of peripheral blood lymphocytes to this protein in the cell culture.

Results: The results indicated a significant amount of surface protein antibodies (IgG) in the serum of patients with brucellosis. Evaluation of lymphocyte responses to rBCSP31 also showed a significant IL-12 and IFN-γ production in patients' lymphocyte cultures.

Conclusion: These results suggest that BCSP31 can elicit specific humoral and cellular responses during host infection and it can be used in designing immunization and serologic diagnosis systems.

Keywords: Brucellosis, 31kDa Cell Surface Protein, Brucella, Cytokine

This paper should be cited as: Khoramabadi N, Mohabati Mobarez A, Tabaraie B, Behmanesh M, Atyabi F, Aghababa H. [rBCSP31 Antibody Response in Patients with Brucellosis: A Candidate for Brucella Vaccine]. mljgoums. 2015; 8(5): 36-42[Article in Persian]