

KATA PENGANTAR

Diagnosa Veteriner Vol. 16, No. 3, Tahun 2017

Alhamdulillah, segala puji bagi Tuhan Yang Maha Kuasa. Atas rahmat dan karuniaNya Buletin Diagnosa Veteriner Vol. 16, No. 3, Tahun 2017 dapat diterbitkan. Buletin edisi ini kami menyajikan artikel hasil penelitian “Respon Imun Humoral Vaksin Subunit SLPS dan Brucella Strain RB51 pada Mencit (*Mus musculus*)”. Artikel kedua yaitu “LPS *Brucella* spp : Struktur, Biosintesis dan Interaksi dengan Sistem Imun Hospes”. Tulisan terakhir adalah “Review Literatur: Sushi dalam Perspektif Kesehatan Masyarakat Veteriner, Sosial Budaya dan Ekonomi”.

Redaksi membuka kesempatan kepada semua pihak yang berkepentingan dengan dunia veteriner dan peternakan untuk menyampaikan ide atau gagasan berupa karya ilmiah populer pengamatan lapangan, hasil penelitian atau review melalui buletin ini.

Redaksi mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari pembaca sebagai bahan pembelajaran untuk pengembangan Buletin Diagnosa Veteriner volume selanjutnya.

Maros, 27 Desember 2017

Redaksi

DIAGNOSA VETERINER

Buletin Informasi Kesehatan Hewan dan
Kesehatan Masyarakat

International Standard Serial Number (ISSN) : 0216 – 1486

Volume : 16

No : 3

Tahun : 2017

SUSUNAN REDAKSI

Penanggung Jawab : Kepala Balai Besar Veteriner Maros

Pemimpin Redaksi : Kepala Seksi Informasi Veteriner

Penyunting/ editor : Kepala Bidang Pelayanan Veteriner
drh. Dini Marmansari
drh. Titis Furi Djatmikowati
drh. Hadi Purnama Wirawan, M.Kes

Sekretariat : Suryani Gesha Utami, A.Md
Marwati, S. Sos

DAFTAR ISI

Diagnosa Veteriner Vol. 16, No. 3, Tahun 2017

	Halaman
Kata Pengantar	i
Susunan Redaksi	ii
Daftar Isi	iii
Respon Imun Humoral Vaksin Subunit SLPS dan Brucella Strain RB51 pada Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	1
LPS <i>Brucella</i> spp : Struktur, Biosintesis dan Interaksi dengan Sistem Imun Hospes	5
Review Literatur: Sushi dalam Perspektif Kesehatan Masyarakat Veteriner, Sosial Budaya dan Ekonomi	11

LPS *Brucella* spp : Struktur, Biosintesis dan Interaksi dengan Sistem Imun Hospes

Saiful Anis

Medik Veteriner, Balai Besar Veteriner Maros

Latar belakang

Brucellosis adalah penyakit infeksius bakterial yang disebabkan oleh bakteri-bakteri dari genus *Brucella*. Brucellosis telah banyak menimbulkan dampak terhadap kesehatan hewan dan manusia, dan secara luas menimbulkan dampak sosial ekonomi, terutama bagi negara-negara yang menyandarkan pendapatan utamanya kepada peternakan, baik sebagai penghasil daging maupun susu [1].

Terdapat enam spesies diantara genus *Brucella* yang sampai saat ini sudah diketahui, yaitu: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis*, dan *B. neotomae*. Klasifikasi ini terutama didasarkan pada perbedaan pathogenisitas dan hospes utamanya [2]. Pathogenik utama diantara bakteri ini adalah *B. abortus* sebagai penyebab brucellosis pada sapi; *B. melitensis* etiologi utama brucellosis pada domba dan kambing, suatu penyakit yang menyebabkan abortus pada domba dan kambing, terutama di negara-negara Mediterania; dan *B. suis* sebagai penyebab brucellosis pada babi. Secara berurutan *B. ovis* dan *B. canis* adalah penyebab epididimitis pada domba dan brucellosis pada anjing [3]. Untuk *B. neotomae* kasus terlapor hanya terjadi pada tikus gurun. Strain *Brucella* juga menyerang satwa liar yang beraneka ragam seperti: bison, rusa, babi liar, serigala, kerbau liar, dan elk [4]. Akhir-akhir ini bahkan muncul dua genus baru *Brucella* pada mamalia laut yaitu *B. pinnipediae* dan *B. cetaceae* [5,6]. Untuk membedakan spesies dan biovar pada saat ini dilakukan dengan pengujian diferensiasi berdasarkan karakteristik phenotip antigen lipopolysaccharida, phage typing, dye sensitivity, kebutuhan CO₂, produksi H₂S dan properti metabolik [7].

Sebagai tambahan, *Brucella* juga berpotensi dijadikan sebagai senjata biologis semenjak diketahui bahwa *Brucella* dapat ditransmisikan melalui spray, sebagaimana telah terlapor adanya pada manusia yang terinfeksi melalui bakterial spraying di laboratorium atau kontaminasi yang terjadi pada saat abortus pada hewan terinfeksi [8]. *Brucella* adalah bakteri yang sangat kontagius, 10 sampai 100 bakteri sudah cukup untuk menimbulkan kontaminasi spray pada manusia.

Makalah ini mereview pentingnya lipopolysaccharida terhadap derajat virulensi *Brucella*, komposisi kimia LPS, genom *Brucella*, gen yang terlibat pada biosintesis LPS dan interaksi antara LPS dan innate immunity.

Komposisi kimia LPS strain *Brucella*

Outer membrane mengandung lipopolysaccharida (LPS) yang merupakan faktor virulensi utama *Brucella*. LPS merupakan komponen yang sangat penting dalam mempertahankan integritas struktur dan fungsional outer membran bakteri Gram negatif. Setiap bakteri Gram negatif selalu mengekspresikan gen penyandi LPS, selain itu LPS juga berperan sebagai target primer dari sistem immune innate mamalia. *Brucella* memiliki struktur LPS non klasik yang unik dibandingkan dengan LPS klasik golongan enterobacteria misalnya *Escherichia coli* [9]. Virulensi utama *Brucella* ditentukan oleh LPS, hal ini dibuktikan dengan berkurangnya kemampuan survival organisme ini ketika secara alamiah kekurangan LPS.

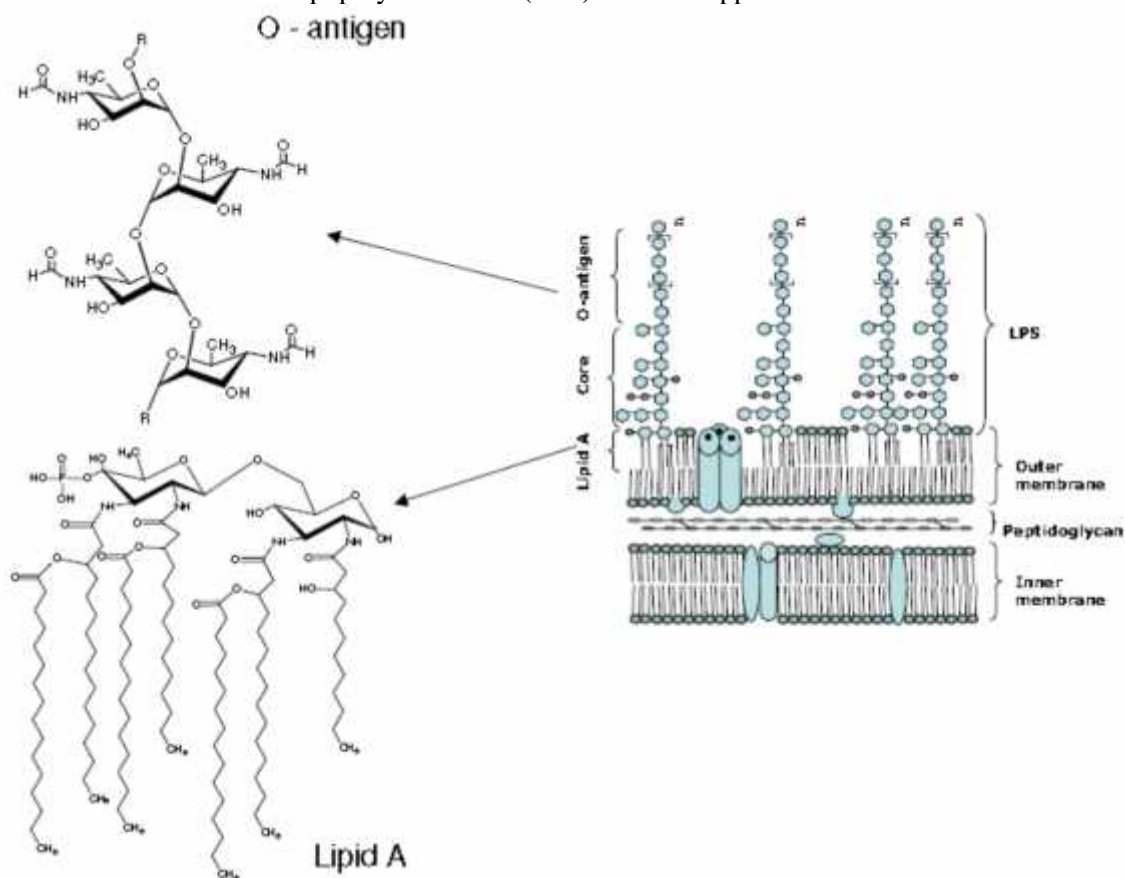
LPS memiliki tiga domain: lipid A, core oligosaccharida, dan O-antigen atau O-side chain (gambar 1.). O-polysaccharida LPS smooth *Brucella* (S-LPS) adalah homopolymer 1,2-linked 4,6-dideoxy-4-formamido- β -D-mannopyranosyl tidak bercabang, biasanya dengan panjang rangkaian rata-rata 96 sampai 100 glycosyl subunits [10]. O-polysaccharida terhubung dengan core oligosaccharida yang tersusun atas mannososa, glukosa, 2-amino-2,6-dideoxy-D-glucose (quinovosamine), 2-amino-2-deoxy-D-glucose (glucosamine), 3-deoxy-D-manno-2-octulosonic acid (KDO) dan gula yang tidak teridentifikasi. Lipid A, terhubung dengan core oligosaccharide, mengandung 2,3-diamino-2,3-dideoxy-D-glucose (diaminoglucose) sebagai penyusun utama, amida dan ester-terikat rangkaian panjang jenuh (C16:0 sampai C18:0) dan

asam lemak hydroxylated (3-OH-C12:0 to 29-OH-C30:0) [11]. Lipid A hydrophobic pada umumnya menyusun selaput luar outer membrane dan bertanggung jawab terhadap beberapa

properti endotoksik yang berhubungan dengan LPS [12]. *Brucella* lipid A mengandung fragmen protein outer membrane yang memiliki ikatan sangat kuat, prosedur konvensional tidak dapat melepas lipid-A-associated protein dari LPS enterobacteria [11,13].

Heterogenitas LPS enterobacteria diketahui berhubungan dengan panjang O-polysaccharida-nya dan perbedaan kimiawi penyusun core oligosaccharida dan lipid A [14]. Pada enterobacteria lipid A, derajat heterogenitas ini tergantung pada perbedaan kombinasi amida dan asam lemak terikat ester, phosphat, gula netral, ethanolamine dan perbedaan tipe struktur amino gula yang ada pada molekul [15]. Untuk keperluan praktis, perbedaan derajat heteogenitas LPS ini sebagai dasar studi immunologi dan diagnosa brucellosis [16].

Gambar 1. Skematik struktue lipopolysaccharide (LPS) *Brucella* spp.



Genome *Brucella*

Pada saat ini, sequence genome *B. abortus*, *B. melitensis* dan *B. suis* sudah tersedia [17-19]. Genome dari *B. abortus*, *B. melitensis* dan *B. suis* memiliki sequence, organisasi dan struktur yang sangat mirip. Beberapa fragmen memiliki genom yang unik. Komparasi genomik memungkinkan kita untuk membedakan aspek virulensi *Brucella* yang sebelumnya tidak dapat dilakukan. Era teknologi post genomic sekarang ini menawarkan kesempatan untuk memahami secara menyeluruh perbedaan biologis spesies *Brucella*. Pada tingkat proteotome dijumpai perbedaan extensive metabolit antara *B. melitensis* reference strain 16 M dengan strain vaksin Rev1. Sama halnya dengan pada kultur laboratoris *B. melitensi* dan *B. abortus* dapat dibedakan hanya dengan melihat proteotome-nya [20]. Dengan menggunakan sequence komplet *B. melitensis*, Dricot *et al.* [21] menghasilkan database protein-coding ORF dan menyusun perpustakaan ORFome 3091 sebagai jalur untuk membuat klon. Tabel 1 merupakan gen penyandi untuk biosintesis O-antigen pada *Brucella* spp.

Tabel 1. gen penyandi untuk biosintesis O-antigen pada *Brucella* spp.

Gen	Produk
Gmd	GDP-mannose dehidratase
Per	Perosamine synthetase
Pgm	Phosphoglucomutase
Pmm	Phosphomannomutase
ManB	Mannose isomerase
ManC	Mannose guanylyltransferase
Wzm	O-antigen export permease
Wzt	ATP-binding protein
WbkB	no similarity to known genes
WbkC	Methionyl tRNA formyltransferase
WbkA	N-formyl-perosaminyltransferase

Gen yang terlibat pada biosintesis LPS

Pada umumnya penelitian gen dan produknya yang terlibat dalam biosintesis LPS selalu berhubungan dengan sintesis O-chain (tabel 1). Banyak strain mutan atenuasi dengan kelainan pada struktur LPS mengkonfirmasi betapa pentingnya molekul ini terhadap derajat virulensi *Brucella*. Sebaliknya, kepentingan LPS dalam siklus hidup *Brucella*, sangat sedikit yang diketahui tentang metabolic pathway dan enzyme yang dibutuhkan dalam sintesisnya.

Di bawah ini digambarkan beberapa gen utama yang terlibat pada biosintesis LPS dan perannya dalam menyandi produk.

Perosamine synthetase (per)

Godfroid et al. [27] menggambarkan analisis molekuler gen yang dibutuhkan dalam sintesis O-antigen pada *Brucella melitensis* 16 M. Gen perosamine synthetase diklon dan dilakukan sequencing. pada *V. cholerae* O1, perosamine disintesis dari fructose 6-phosphate melalui empat intermediat: mannose 6-phosphate, mannose 1-phosphate, GDP-mannose, dan 4-keto-6-dideoxymannose. Terakhir, produk akhir ini dikonversi menjadi GDP-perosamine oleh perosamine synthetase [23]. Dikarenakan tahap akhir dari perosamine synthesis pathway antara *V. cholerae* dan *B. melitensis* identik maka, diasumsikan tahap-tahap awal identik atau serupa diantara kedua organisme ini. Pada *Brucella*, GDP-perosamine kemudian akan berperan sebagai substrat yang ditambahkan untuk menyusun dan mengalami polimerisasi menjadi O-antigen, ditranslokasikan ke periplasma, ditransfer ke lipid A-core oligosaccharide, dan diekspor ke permukaan sel. Gangguan pada per (B3B2 mutant) menyebabkan ketidakmampuan secara total biosintesis O-sidechain dari *B. melitensis* 16 M.

Phosphomannomutase (pmm atau manB)

Allen et al. [22] dengan lebih baik mengkarakterisasi peran dari O-antigen terhadap virulensi dan kemampuan bertahan menggunakan transposon mutagenesis untuk membuat *B. abortus* rough mutants dengan presentasi defek pada O-antigen. Strain mutan yang ditandai dengan adanya pemotongan rough LPS dan dilakukan analisa sequence DNA terhadap mutan ini, terungkap bahwa gangguan terjadi pada gen penyandi phosphomannomutase (pmm atau manB), yang memiliki aktivitas yang dibutuhkan dalam sintesis full-length core polysaccharide yang akan ditambahkan pada O-antigen. Gen ini bertanggung jawab dalam interkonversi mannose-6-phosphate dan mannose-1-phosphate. Dalam *Brucella*, kedua mannose tersebut adalah prekursor penting dalam O-antigen biosynthetic pathway dan dalam produksi inner core moiety LPS [24].

Phosphoglucomutase (pgm)

Gen penyandi phosphoglucomutase (pgm) adalah gen yang terlibat dalam biosintesis O-antigen pada *B. abortus* [25]. Gen ini secara mutlak dibutuhkan dalam biosintesis ADP-glucose, UDP-glucose, dan UDP-galactose, donor dari glukosa atau galaktosa untuk biosintesis

molekul yang mengandung gula ini. *B. abortus* LPS O-antigen adalah homopolymer dari perosamine, suatu derivat dari mannose yang disintesis melalui GDP-mannose, oleh karena itu spesies pgm mutan tidak dipengaruhi oleh sintesis GDP-perosamine, sebagai pendonor gula dari O-antigen subunit. Inserti mutagenesis pgm akan menghasilkan *B. abortus* yang memiliki gen resistan terhadap gentamisin dan pada profil elektroperisisnya LPS yang diekstraksi dari mutan ini kehilangan O-antigen-nya. Mutan ini tidak dapat bertahan dalam mencit namun dapat bereplikasi pada sel HeLa, hal ini mengindikasikan bahwa LPS komplit tidak esensial dalam invasi atau multiplikasi intraseluler. Perilaku ini menunjukkan bahwa LPS memerankan peran dalam survival ekstraseluler pada hewan, kemungkinan dengan melindungi bakteri terhadap lysis yang dimediasi oleh komplemen, tetapi tidak dengan mekanisme survival intraseluler.

Interaksi antara *Brucella* LPS dan innate immunity hospes

Sangat berbeda dengan pathogen intraseluler lainnya, spesies *Brucella* tidak memproduksi eksotoksin, kapsul antipagosit atau dinding sel yang tebal, bentuk resistensi atau fimbriae, dan tidak menunjukkan adanya variasi antigenik [26]. Kunci dari aspek virulensi *Brucella* terletak pada kemampuannya untuk berproliferasi baik di dalam profesional ataupun non profesional sel pagositik hospes. Oleh karena itu, *Brucella* sukses melewati efek bakterisidal pagosit, dan virulensinya serta infeksi kronis yang dihasilkan didapat melalui kemampuannya menghindari *killing mechanisms* sel hospes [27].

Beberapa penelitian dengan menggunakan non-profesional pagosit menunjukkan *Brucella* menyerang sel hospes dan ditelan ke dalam *early endosome-like vacuoles*. Vakuola ini kemudian dengan cepat menyatu dengan *early autophagosome* yang memperoleh vacuolar H⁺-ATPase dan *lysosome-associated membrane protein* (LAMP) sehingga matang menjadi *late autophagosome*. Autophagosome ini menghambat terjadinya fusi dengan lysosom dan akhirnya menjadi vakuola tempat replikasi secara normal yang berasosiasi dengan retikulum endoplasma [29,31]. Porte *et al.* Menunjukkan bahwa LPS O-side chain terlibat dalam penghambatan fusi awal dari phagosome yang berisi *B. suis* dengan lysosom dalam makrofag bangsa murine pada awal pasca pagositosis [32]. Hal ini sangat kontras dengan phagosome yang berisi rough mutan, yang gagal untuk mengekspresikan O-antigen, yang dengan cepat terjadi fusi dengan lysosom. LPS O-chain bisa jadi sebagai pengatur utama perilaku awal bakteri dalam makrofag.

Pengenalan sel seperti monosit dan makrofak terhadap keberadaan LPS selama berabad-abad menyebabkan respon yang cepat dari hospes mamalia terhadap infeksi Gram negatif. Respon bawaan cepat terhadap LPS ini ditandai dengan keterlibatan pelepasan mediator *pro-inflammatory seperti TNF- α* , IL-6, IL-2 dan IL-1 yang dalam situs lokal infeksi dalam tingkat sedang menguntungkan hospes dengan menimbulkan peradangan dan dilain pihak sistem kekebalan tubuh akan bekerja untuk menghilangkan organisme penyerang. Namun, dalam kondisi di mana tubuh terpapar LPS berlebihan atau secara sistemik (seperti ketika LPS memasuki aliran darah), maka reaksi inflamasi sistemik dapat terjadi, menyebabkan kegagalan beberapa fungsi organ, shock dan berpotensi menimbulkan kematian [31].

Pengenalan LPS bakteri dimediasi oleh CD14, namun CD14 tidak memiliki transmembran dan intraseluler domain yang diperlukan sebagai sinyal transduksi dengan demikian membutuhkan keterlibatan molekul dari keluarga TLR. Penemuan baru-baru ini tentang protein TLR, mamalia memiliki reseptor pingingat, memberikan wawasan baru dalam memahami mekanisme bagaimana *Brucella* dapat menimbulkan respon seluler dari sel kekebalan bawaan. *B. abortus* menginduksi produksi interleukin (IL) -12 dari monosit manusia dan efek ini diblokir oleh antibodi anti-CD14, menunjukkan bahwa *Brucella* mengikat dan / atau memberi sinyal ke monosit dimediasi oleh LPS [32]. Selain itu, *Brucella* memiliki kemampuan untuk menimbulkan sekresi memperoleh IL-12 yang mendorong sel Th0 untuk berdiferensiasi menjadi sel Th1 effector dan sel memori, dimana hal ini yang merupakan ciri utama dari potensi penggunaan *B. abortus* sebagai vaksin dan pembawa adjuvant.

B. abortus, LPS-nya yang telah dimurnikan dan lipid A memiliki kemampuan untuk memicu TLR2 dan TLR4 dalam aktivasi *innate recognition* dan kemampuan eliminasi bakteri penyerang [33].

Referensi

1. Robinson, A. 2003. *Guidelines for Coordinated Human and Animal Brucellosis Surveillance*. FAO. Rome
2. Corbel MJ, Brinley-Morgan WJ: Genus Brucella. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 1. Edited by: Krieg NR, Holt JG. The Williams & Wilkins, Baltimore; 1984:377-388.
3. Blasco JM: Brucella ovis. In Animal brucellosis Edited by: Nielsen K, Duncan JR. Boca Raton, FL: CRC Press; 1990:351-78.
4. Davis DS: Brucellosis in Wildlife. In Animal Brucellosis Edited by: Nielsen K, Duncan JR. CRC Press, Boca Raton, FL; 1990:321-334.
5. Cloeckaert A, Verger JM, Grayon M, Paquet JY, Garin-Bastuji B, Foster G, Godfroid J: Classification of Brucella spp. isolated from marine mammals by DNA polymorphism at the omp2 locus. Microbes Infect 2001, 3:729-738.
6. Cloeckaert A, Grayon M, Grépinet O, Boumedine KS: Classification of Brucella strains isolated from marine mammals by infrequent restriction site-PCR and development of specific PCR identification tests. Microbes Infect 2003, 5:593-602.
7. Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM: Techniques for the Brucellosis Laboratory. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris 1988.
8. Guihot A, Bossi P, Bricaire F: Bioterrorism with brucellosis. Presse Med 2004, 33:119-22.
9. Lapaque N, Moriyon I, Moreno E, Gorvel JP: Brucella lipopolysaccharide acts as a virulence factor. Current Opinion in Microbiology 2005, 8:60-66.
10. Bundle DR, Cherwonogrodzky JW, Gidney MAJ, Meikle PJ, Perry MB, Peters T: Definition of Brucella A and M epitopes by monoclonal typing reagents and synthetic oligosaccharides. Infect Immun 1989, 57:2829-2836.
11. Moreno E, Stackebrandt E, Dorsch M, Wolters J, Busch M, Mayer H: Brucella abortus 16S rRNA and lipid A reveal phylogenetic relationship with members of the alpha-2 subdivision of the class Proteobacteria. J Bacteriol 1990, 172:3569-3576.
12. Raetz CRH: Bacterial lipopolysaccharides: a remarkable family of bioactive macroamphiphiles. In Escherichia coli and Salmonella Volume 1. Edited by: Neidhardt FC. Cellular and Molecular Biology; 1996:1035-1063.
13. Rojas N, Freer E, Weintreub A, Ramfrez M, Lind S, Moreno E: Immunochemical identification of Brucella abortus lipopolysaccharide epitopes. Clin Diagn Lab Immunol 1994, 1:206-213.
14. Freer E, Rojas N, Weintraub A, Lindberg AA, Moreno E: Heterogeneity of Brucella abortus lipopolysaccharides. Res Microbiol 1995, 146:569-578.
15. Raetz CR: Biochemistry of endotoxins. Annu Rev Biochem 1990, 59:129-170.
16. Díaz-Aparicio E, Aragón V, Marín C, Alonso B, Font M, Moreno E, Pérez-Ortiz S, Blasco JM, Diaz R, Moriyón I: Comparative analysis of Brucella serotypes A and M and Yersinia enterocolitica O:9 polysaccharides for serological diagnosis of brucellosis in cattle, sheep, and goats. J Clin Microbiol 1993, 31:3136-3141.
17. DelVecchio VG, Kapatral V, Redkar RJ, Patra G, Mujer C, Los T, Ivanova N, Anderson I, Bhattacharyya A, Lykidis A, Reznik G, Jablonski L, Larsen N, D'Sousa M, Bernal A, Mazur M, Goltsman E, Selkov E, Elzer PH, Hagius S, O'Callaghan D, Letesson JJ, Haselkorn R, Kyrpides N, Overbeek R: The genome sequence of the facultative intracellular pathogen Brucella melitensis. Proc Natl Acad Sci U S A 2002, 99:443-448.
18. Paulsen IT, Seshadri R, Nelson KE, Eisen JA, Heidelberg JF, Read TD, Dodson RJ, Umayam L, Brinkac LM, Beanan MJ, Daugherty SC, Deboy RT, Durkin AS, Kolonay JF, Madupu R, Nelson WC, Ayodeji B, Kraul M, Shetty J, Malek J, Van Aken SE, Riedmuller S, Tettelin H, Gill SR, White O, Salzberg SL, Hoover DL, Lindler LE, Halling SM, Boyle SM, Fraser CM: The Brucella suis genome reveals fundamental

- similarities between animal and plant pathogens and symbionts. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, 99:13148-13153.
19. Halling SM, Peterson-Burch BD, Bricker BJ, Zuerner RL, Qing Z, Li LL, Kapur V, Alt DP, Olsen SC: Completion of the genome sequence of *Brucella abortus* and comparison to the highly similar genomes of *Brucella melitensis* and *Brucella suis*. *J Bacteriol* 2005, 8:2715-2726.
 20. DelVecchio VG, Kapatral V, Elzer P, Patra G, Mujer CV: The genome of *Brucella melitensis*. *Vet Microbiol* 2002, 90:587-592.
 21. Dricot A, Rual JF, Lamesch P, Bertin N, et al.: Generation of the *Brucella melitensis* ORFome Version 1.1. *Genome Research* 2004, 14:2201-2206.
 22. Allen CA, Adams LG, Ficht TA: Transposon-derived *Brucella abortus* rough mutants are attenuated and exhibit reduced intracellular survival. *Infect Immun* 1998, 66:1008-1016.
 23. Stroehner UH, Karageorgos LE, Brown MH, Morona R, Manning PA: A putative pathway for perosamine biosynthesis is the first function encoded within the *rfb* region of *Vibrio cholerae* O1. *Gene* 1995, 166:33-42.
 24. Zygmunt MS, Dubray G, Bundle DR, Perry MP: Purified native haptens of *Brucella abortus* B19 and *B. melitensis* 16 M reveal the lipopolysaccharide origin of the antigens. *Ann Inst Pasteur Microbiol* 1988, 139:421-433.
 25. Ugalde JE, Czibener C, Feldman MF, Ugalde RA: Identification and characterization of the *Brucella abortus* phosphoglucomutase gene: role of lipopolysaccharide in virulence and intracellular multiplication. *Infect Immun* 2000, 68:5719-5723.
 26. Ugalde JE, Comerchi DJ, Leguizamón MS, Ugalde RA: Evaluation of *Brucella abortus* phosphoglucomutase (*pgm*) mutant as a new live rough-phenotype vaccine. *Infect Immun* 2003, 71:6264-9.
 27. Godfroid F, Taminiou B, Danese I, Denoel P, Tibor A, Weynants V, Cloeckert A, Godfroid J, Letesson JJ: Identification of the perosamine synthetase gene of *Brucella melitensis* 16 M and involvement of lipopolysaccharide O side chain in *Brucella* survival in mice and in macrophages. *Infect Immun* 1998, 66:5485-5493.
 28. Finlay B, Falkow S: Common themes in microbial pathogenicity. *Microbiol Mol Biol Rev* 1997, 61:136-169.
 29. Pizarro-Cerda J, Meresse S, Parton RG, van der Goot G, Sola-Landa A, Lopez-Goni I, Moreno E, Gorvel JP: *Brucella abortus* transits through the autophagic pathway and replicates in the endoplasmic reticulum of nonprofessional phagocytes. *Infect Immun* 1998, 66:5711-5724.
 30. Pizarro-Cerda J, Moreno E, Sanguedolce V, Mege JL, Gorvel JP: Virulent *Brucella abortus* prevents lysosome fusion and is distributed within autophagosome-like compartments. *Infect Immun* 1998, 66:2387-2392.
 31. Dorn BR, Dunn WA Jr, Progulsk-Fox A: Bacterial interactions with the autophagic pathway. *Cell Microbiol* 2002, 4:1-10. 52. 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, 71:1481-1490.
 32. Erridge C, Bennett-Guerrero E, Poxton IR: Structure and function of lipopolysaccharides. *Microbes and Infection* 2002, 4:837-851.
 33. Zaitseva M, Golding H, Manischewitz J, Webb D, Golding B: *Brucella abortus* as a potential vaccine candidate: induction of interleukin-12 secretion and enhanced B7.1 and B7.2 and intercellular adhesion molecule 1 surface expression in elutriated human monocytes stimulated by heat-inactivated *B. abortus*. *Infect Immun* 1996, 64:3109-3119.