

Mycobacterium avium paratuberculosis:
возможная причина человеческих
заболеваний или серьезная угроза в сфере
общественного здравоохранения?

Авторы: Carol Nacy и Merry Buckley

Отчет основан на коллоквиуме, организованном Американской академией микробиологии и проведенном 15-17 июня 2007 года в Салеме, штат Массачусетс.

Американская академия микробиологии (ААМ) является почетным членом Американского общества по микробиологии. **Миссия ААМ** – с помощью научных знаний и достижений понять природу явления с точки зрения микробиологии. Академия дает шанс недооцененным ученым проявить себя. Американская академия микробиологии благодарит за оказанную поддержку в проведении этого коллоквиума следующие организации:

- U.S. Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS).
- U.S. Department of Agriculture, Cooperative State Research, Education, and Extension Service (CSREES).
 - U.S. Department of Agriculture, CSREES, John's Disease Integrated Program (USDA-CSREES-NRI Award No. 2007-01019).
 - BD.
 - Broad Foundation.
 - Canadian Foundation for Infectious Diseases.
 - Crohn's & Colitis Foundation of Canada.
 - Giaconda Limited.
 - Hawk Corporation.
 - Kauver Foundation.
 - Oxford Immunotec.
 - Sequella, Inc.
 - TREK Diagnostic Systems, Inc.

Информация, которую вы увидите ниже, является отражением мнения коллоквиума и может не представлять официальную позицию наших спонсоров, а также Американского общества по микробиологии.

Все права защищены © 2008
Американская академия микробиологии
Улица 1752 Н, С3
Вашингтон, округ Колумбия 20036
<http://www.asm.org>

Краткое содержание

Болезнь Крона (БК) представляет собой малоизученное заболевание, постепенно разрушающее организм человека. Более 800 000 людей в Северной Америке страдают от БК, симптоматика которого характеризуется расстройствами желудочно-кишечного тракта, сильными болями в животе, кишечными кровотечениями, кишечной непроходимостью, а также различными внекишечными проявлениями, которые могут препятствовать вести больному нормальный образ жизни. Обострения, как правило, длятся от месяца до нескольких лет. Ученые и врачи сходятся во мнении, что возникновению болезни Крона предшествует ряд определенных событий. Предполагается, что в качестве первопричины может выступать взаимосвязь наследственных генетических признаков, экологической обстановки и гиперактивности иммунного и воспалительного ответов. Сочетание этих факторов способствует развитию БК, причем каждый отдельный случай заболевания может быть абсолютно не похож на другой по степени поражения, тяжести течения и другим признакам. Помимо, собственно, здоровья, больной испытывает трудности в экономической и социальной сферах жизни.

В связи с тем, что болезнь Крона считается заболеванием аутоиммунного характера, основная терапия сейчас направлена на подавление активности клеток иммунной системы. Однако, хроническое воспаление не может возникнуть просто из воздуха. Воспалительный процесс – это ответ организма на «инородное тело». В качестве такового могут выступать как неодушевленные (например, осколок стекла), так и «живые» возбудители (раковые клетки, бактерии, вирусы, грибы т.д.). До тех пор, пока причина воспаления не устранена, иммунная система продолжает атаковать врага. Воспаление стихает в случае деактивации возбудителя.

Есть подозрение о существовании так называемой «генетической неспособности» человека правильно реагировать на определенные бактерии, что косвенно подтверждает инфекционную природу болезни Крона. Такой тип БК, при котором имеется некий набор разнообразных симптомов, в целом не похожий на симптоматику какого-то конкретно заболевания, свидетельствует о том, что, если причина БК кроется в бактерии – то ее (эту бактерию) можно идентифицировать. В настоящее время в качестве вероятных возбудителей выступают *Mycobacterium avium paratuberculosis* и *Escherichia coli*. Наличие более чем одной инфекционной причины (с учетом одинаковой симптоматики) приводит к путанице в научных исследованиях по поиску истинной природы БК и способов его лечения.

Итак, как вы уже поняли, потенциальная причина болезни Крона кроется в *Mycobacterium avium paratuberculosis* (MAP) - микроорганизме, который вызывает схожие с БК воспаления в органах желудочно-кишечного тракта у жвачных животных (в том числе и коров), у которых это заболевание называется **болезнью Ионе** (или **паратуберкулезом**). Шанс обнаружить в крови или тканях кишечника больного БК MAP в 7 раз выше, чем у здорового человека! Чрезвычайно важный вопрос на сегодня звучит следующим образом: **если представить, что MAP никак не связана с БК, может ли она спровоцировать развитие болезни Крона, или эта бактерия всего лишь случайно присутствует в организме больного, не являясь первопричиной и не принимая участия в течение заболевания?**

Если MAP непосредственно влияет на БК или другие желудочно-кишечные заболевания, то мы должны определить, каким образом люди становятся подвержены воздействию этого микроорганизма, как предотвратить это воздействие, и как лечить инфекцию.

Несмотря на распространенность БК в США, это заболевание не является первичным объектом исследования, в отличие от, например, всевозможных видов рака. Американская академия микробиологии организовала коллоквиум с участием экспертов в области медицины, микробиологии, ветеринарной патологии, эпидемиологии, инфекционных болезней и безопасности пищевых продуктов для аккумуляции знаний о взаимосвязях между MAP и БК с целью в перспективе выработать общие принципы для исследований, которые помогут нам понять истинную природу болезни Крона.

Эксперты сошлись на мнении, что, безусловно, существуют причины подозревать MAP в первопричине и дальнейшем течении БК:

- **MAP сохраняется в загрязненной почве и воде**, что приводит к взаимосвязи экологической обстановки и болезни Крона.
- **MAP имеет клеточную стенку, которая содержит muramyl dipeptide (MDP, мурамил-дипептид)**. У некоторых больных ген NOD2, который регулирует способность иммунитета реагировать на MDP, является дефектным. Таким образом, мы можем наблюдать взаимосвязь между генетикой и MAP или другими бактериями.
- **MAP вызывает болезнь Ионе** - заболевание крупного рогатого скота и других жвачных животных, которая имеет много общих черт с болезнью Крона. Сходства болезни Ионе и БК обеспечивают симптоматическую связь между MAP и этими двумя заболеваниями.
- **MAP может выживать после пастеризации молока**. Среди ученых возрастает беспокойство о возможном нахождении MAP в сыре и мясе, сделанных из молока MAP-инфицированных коров. Эти наблюдения могут служить основой для исследования воздействия MAP на людей.
- **Лечение некоторых людей с БК антибиотиками, не направленными конкретно на MAP, снижают симптомы заболевания**.

С одной стороны, мы видим довольно убедительные аргументы, доказывающие роль MAP в патогенезе болезни Крона. С другой стороны, мы не можем обозначить MAP в качестве единственной причины БК ввиду отсутствия широкодоступных и проверенных клинических инструментов, чтобы легко и однозначно идентифицировать MAP в доступных биоматериалах. По нашему мнению, основная проблема кроется в отсутствии ресурсов, финансовых и научных, для создания инструментов, с помощью которых врачи и пациенты смогут определить, играет ли MAP какую-либо роль в БК или нет.

На людях с БК было проведено несколько клинических испытаний разных антибиотиков. Лечение пациентов антибиотиками против микобактерий (*M. tuberculosis*, которая вызывает туберкулез, и *M. avium complex (MAC)*, включающая в себя *Mycobacterium avium subsp. avium*, *Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis* и *Mycobacterium avium subsp. Silvaticum*, которая может быть патогенна для лиц со сниженным иммунитетом) либо не вообще не оказывало положительного влияния (в случае с препаратами против *M. tuberculosis*), либо дало многообещающие результаты у некоторых пациентов (препараты против MAC).

Запутывает ситуацию недостаток информации о том, какие пациенты в клиническом исследовании были фактически заражены MAP, и любая ли MAP поддается лечению с помощью применяемых в испытаниях лекарств. Без чувствительных и специфичных методов диагностики, которые смогут обнаружить MAP в самом ее «зачатии», без знаний о том, как и где мы можем вычленить MAP для антибиотических исследований, а также без препаратов, которые будут самостоятельно или в сочетании с другими лекарствами справляться с этой бактерией, роль MAP в развитии и течении болезни Крона будет не доказана, и споры насчет этиологии БК будут продолжаться.

Нам мало что известно о том, где именно в человеческой ткани можно найти активную MAP. В то время как у животных в месте инфекции и тканевых патологиях последствия MAP могут быть оценены при вскрытии, ввиду сильного различия между пищеварительными процессами жвачных животных и людей, эта информация не может быть в полной мере спроецирована на человека.

Особую опасность с точки зрения общественного здравоохранения представляет присутствие MAP в рогатом скоте, которые поставляются в США наряду с молочными и мясными продуктами. Если, на самом деле, БК является **зоонозной инфекцией** (передающейся от животных к человеку) и MAP является причиной (или одной из причин) болезни Крона, то раннее выявление MAP в ветеринарной практике и надлежащее

использование этой информации в снабжении продовольствием будут иметь решающее значение в охране здоровья населения.

Даже у животных почти невозможно диагностировать болезнь Ионе на начальной ее стадии. Диагноз ставится по совокупности клинических наблюдений (например, истощение, а также сокращение производства молока в молочном животноводстве) и микробиологических, гистопатологических и иммунологических исследований. Несмотря на то, что попытки по избавлению животных от болезни Ионе и MAP до сих пор предпринимаются, отсутствие точной и легко-применимой диагностики для отслеживания самого зарождения заболевания препятствует этим усилиям. Результаты существующих методов неоднозначны, и даже сейчас на полках супермаркетов можно найти MAP-инфицированные продукты питания. Ветеринарные методы диагностики, являющиеся максимально чувствительными (обнаружение MAP на ранних стадиях ее развития) и специфичными (идентификация именно MAP, а не других микроорганизмов), необходимы для изолирования инфицированных продуктов питания от массового населения. Подобные исследования помогут также пролить свет и на болезнь Крона.

Участники коллоквиума согласились, что в исследовании с целью выяснения роль MAP в БК необходимо найти две основные неизвестные:

1. Может ли MAP передаваться человеку от животных и если «да», то каким путем?
2. Становятся ли люди склонными к болезни Крона после контакта с MAP?

В настоящее время нет единственно верного исследования, способного доказать взаимосвязь между MAP и БК. Кроме того, участники согласились с необходимостью установления биологических маркеров, подтверждающих наличие MAP у человека. Если MAP может быть причиной болезни Крона, пациент сможет получать лечение антибиотиками, нацеленными против этой инфекции. Тогда, по крайней мере, MAP-инфицированные люди с БК будут знать и об истинной причине своего недуга, и о реально работающем способе терапии.

Болезнь Крона (БК)

Заболевание было названо в честь Burrill В. Crohn, американского врача, обозначившего в 1932 году четкие отличия БК от кишечного туберкулеза. Болезнь Крона характеризуется хроническим и изнурительным воспалением органов желудочно-кишечного тракта, сопровождающимся разной степени болью, частыми приступами диареи, а также нехваткой витаминов и питательных веществ из-за быстрого прохождения пищи через воспаленный ЖКТ. Во время тяжелых обострений некоторые пациенты вынуждены получать парентеральное питание. Эти разрушительные и повторяющиеся симптомы могут заставить больных ограничить или полностью отказаться от рабочей деятельности, что крайне негативно скажется и на психоэмоциональное состояние человека. Неопределенность самочувствия и систематические обострения вводят больных в тревогу, депрессию и в дальнейшем приводят к общественной изоляции. По состоянию на 2001 год, более 500 000 жителей США имеют диагноз «болезнь Крона». Более поздние статистические данные показывают, что около 800 000 человек в Северной Америке и каждый тысячный в прозападных странах живут с БК. Примерно 50% граждан США с болезнью Крона - это дети. В настоящее время нет способа полностью вылечить БК.

При должном применении противовоспалительных препаратов или иммунодепрессантов, люди с БК могут войти в ремиссию, но, как правило, рано или поздно обострение все равно появится, и с течением времени тяжесть симптомов будет увеличиваться. Хирургическая операция по удалению воспаленных участков кишечника является единственным вариантом облегчить симптомы многих людей с БК. Многие другие пациенты предпочитают безостановочное применение различных лекарств, дабы облегчить некоторые из симптомов, однако большинство из этих препаратов имеют опасные для жизни побочные эффекты.

Наиболее достоверные теории об этиологии болезни Крона

Аутоиммунная природа

В течение многих десятилетий БК считается аутоиммунным заболеванием. Имеется в виду то, что иммунная система ошибочно идентифицирует ткани желудочно-кишечного тракта, в частности, толстой кишки, как "вредоносные" или "чужие" и начинает активно их атаковать. Однако, относительно недавно выяснилось, что патологии, связанные с БК, наблюдались и в других условиях (например, во время **гранулематозной болезни и переменного иммунодефицита**), во время которых регуляция иммунных и воспалительных клеток также меняется, дабы справиться с бактериальными агентами. Кроме того, исследования лейкоцитов пациентов с БК демонстрируют дисфункции в способности этих клеток к поглощению патогенов.

Эти более поздние исследования ставят под сомнение аутоиммунную природу болезни Крона. Мы можем предположить, что это заболевание не является результатом действия иммунной системы, направленной непосредственно против человеческой ткани.

Генетический сбой

Исследования показывают, что БК имеет генетический компонент; тот, который отвечает за сбой в работе иммунитета. Исследовав геном пациентов с болезнью Крона, ученые нашли взаимосвязь между заболеванием и генами семейства NOD2. Мутации в гене NOD2, обнаруженные у людей с БК, нарушают способность клеток иммунной системы распознавать определенные сигналы, которые присутствуют у патогенных бактерий. Известно также, что наследственность не является единственной причиной гиперактивности иммунитета: сбой иммунной системы может возникнуть также вследствие инфекционного и/или экологического воздействия.

Экологическая причина

Как ответили независимые исследователи из нескольких стран, в последнее десятилетие скорость распространения болезни Крона среди населения увеличилась. Существует взаимосвязь между ростом экономических условий и увеличением популяции людей с болезнью Крона. Все это было истолковано как свидетельство того, что экологический фактор оказывает большое влияние на генетику человека.

Микроорганизмы

Дефектный ген NOD2 встречается у 25-35% пациентов с БК, что наводит на мысль о микробном факторе в самом начале заболевания, по крайней мере, у некоторых людей. Воспаление тканей и соответствующая симптоматика болезни Крона могут быть обусловлены либо некорректным ответом иммунной системы на безвредные бактерии, либо недостаточным на патогенные раздражители. В результате чего, как следствие безуспешных попыток иммунокомплементных клеток устранить агента, ткани кишечника оказываются поврежденными и воспаленными. Бактерии, о которых мы ведем речь, являются составляющими нормальной микрофлоры кишечника, и имя им - *Escherichia coli* (кишечная палочка).

Многофакторная этиология

Причина (или причины) БК не известны; заболевание имеет комплексный характер. Возможно, что первопричина болезни Крона заключается в сочетании разных воздействий. Учитывая все многообразие симптомов у разных пациентов, БК может возникнуть в результате активности патогенных микроорганизмов и/или различных основных генетических или иммунных факторов.

Источники MAP

В почве содержится большое разнообразие мест, которые буквально наполнены живыми организмами: на грамм почвы приходится более 10 млн бактерий, грибов и паразитов. MAP относится к большому и разнообразному семейству Микобактерий, многие из которых (около 40 различных видов) широко распространены в окружающей среде. Большинство этих микобактерий не являются опасными для животных или людей, и их нахождение в почве делает ее плодородной и подходящей для роста животного корма.

Некоторые из микобактерий, такие как *M. kansasii*, *M. abscessum* или *M. scrofulaceum*, в случае низкого иммунитета млекопитающего, могут стать "оппортунистическими" и вызвать заболевание (оппортунистические инфекции - заболевания, вызываемые условно-патогенными вирусами или клеточными организмами, которые обычно не оказывают никакого воздействия на здоровых особей).

На другой стороне разнообразия семейства Микобактерий есть несколько видов, которые, как правило, не встречаются в почве и которые хорошо приспособлены к жизни внутри млекопитающих. Эти микобактерии являются факультативными внутриклеточными патогенами, которые продуцируют в млекопитающих большое количество белых кровяных клеток, называемых макрофагами - первой линией защиты организма от инфекций. Профицит макрофагов может привести к серьезным проблемам в т.ч. и к хроническим заболеваниям. Не трудно догадаться, что такого рода микобактерии были признаны опасными для здоровья населения. К ним относятся *M. tuberculosis complex* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti* и *M. canetti*) – микобактерии, являющиеся этиологическими агентами заразной и со смертельным исходом формой туберкулеза у животных (от *M. bovis*) и у людей (от *M. tuberculosis*). Человек может заразиться туберкулезом воздушно-капельным путем от инфицированных животных (зоонозов) или от других инфицированных людей. Так, 2 миллиарда из 6 миллиардов человек во всем мире заражены *M. tuberculosis*, и ежегодно регистрируется по 2-3 миллиона случаев смерти от туберкулеза.

Виды другого семейства микобактерий, *M. avium complex* (MAC), представляют собой еще одну угрозу для здоровья человека. Эти бактерии находятся в почве и воде, но некоторые бактерии из MAC были специально приспособлены к жизни в млекопитающих или птицах. Семейство MAC эволюционировали на два различных подсемейства, которые отличаются друг от друга как генетически, так и фенотипически:

- *M. avium subspecies avium* (MAA) эволюционировала, чтобы иметь возможность существовать в почве; MAA может стать условно-патогенной бактерией. Штаммы MAA могут встраиваться в группу свободно живущих бактерий, которые размножаются в окружающей среде, особенно в воде. MAA может инфицировать птиц и человеческие легкие, вызывая либо кратковременную инфекцию низкой тяжести, либо хроническое воспаление, которое, в конечном счете, приведет к смерти. MAA может вызвать потенциально смертельную пневмонию у иммунокомпрометированных особей, а также является одним из условно-патогенных возбудителей иммунодефицита человека (ВИЧ).
- *M. avium subspecies paratuberculosis* (MAP) относится ко второй генетической подгруппе MAC, которая может сохраняться в почве или воде от нескольких месяцев до нескольких лет. Не ясно, может ли на самом деле MAP размножаться в такой среде, т.к. способность производить *mycobactin* - феррихром, образуемый микобактериями для перевода железа в растворимую форму – у нее отсутствует. Вместо этого MAP научилась инфицировать и размножаться внутри тех самых макрофагов, как и *M. tuberculosis*. Вместо того, чтобы повреждать дыхательную систему инфицированного, MAP воздействует на желудочно-кишечного тракт и может вызвать **болезнь Ионе**, постепенно убивая зараженное животное.

MAP и болезнь Ионе

В США болезнь Ионе вынуждает тратить на лечение крупного рогатого скота более \$1,5 млрд в год. Болезнь Ионе распространена по всему земному шару, и, хотя по симптоматике заболевание легко обнаружить, в самом начале инфицирования диагностировать проблему весьма проблематично. Здоровые внешне, но по факту инфицированные животные, передают MAP через молоко и навоз, незаметно заражая других особей. В результате незаметного инфицирования, изоляция зараженных животных от неинфицированных представляется практически невозможной.

Распространенность

Несмотря на то, что MAP, причина паратуберкулеза, имеет широкий круг распространения, наиболее подверженные инфицированию являются жвачные животные, такие как крупный рогатый скот, овцы, козы или олени. Болезнь Ионе наиболее всего распространена среди молочного скота, где высокая плотность

контакта животных и более обширное загрязнение являются предпосылками к повышению популяции MAP. Несмотря на то, что есть доказательства о некоторых «опасных» штаммах MAP, считается, что **абсолютно все виды этой бактерии способны вызывать те или иные заболевания.**

MAP имеет широкое географическое распространение, и болезнь Ионе была зафиксирована абсолютно на каждом континенте и практически в каждой стране, которая имеет возможность заниматься животноводством и лабораторно-диагностической деятельностью. В 1996 году 3-10% дойного стада в США были инфицированы MAP. По результатам аналогичного опроса в 2007 году стало ясно, что 68% американского молочного скота оказались зараженными. В Швеции и Норвегии, где инфекция тщательно отслеживается, распространенность ее среди крупного рогатого скота стремится к нулю; в Нидерландах доходит до 50%, в Дании - до 80%. Инфекция широко распространена в неразвитых регионах Австралии. Лишь немногие страны, которые уделяют должное внимание здоровью животных, абсолютно свободны от MAP и болезни Ионе. Однако, из-за того, что профилактика MAP затруднительна, в последнее время даже в «чистых» странах распространенность зараженных животных увеличилась.

Между животными MAP передается фекально-оральным методом. Существует возрастная восприимчивость к MAP - большинство случаев инфицирования происходит в начале жизни животного. Заражение новорожденных происходит, вероятно, путем передачи вируса в утробе матери (до рождения), либо во время вскармливания матерью своего ребенка зараженным молоком.

Зараженные животные являются единственным источником MAP в природе, так как возбудитель, как правило, не реплицирует вне клеток млекопитающих. При обнаружении MAP в почве или воде можно предположить, что окружающая среда была загрязнена MAP через фекалии зараженного животного. MAP, попавшая из млекопитающего в окружающую среду, может сохраняться в ней в течение многих лет, и почва становится еще одним возможным источником новых инфицированных животных. Однако, необходимо провести дополнительные исследования для уточнения роли MAP в загрязненной воде и почве в качестве источника заражения животных.

Симптомы

Болезнь Ионе характеризуется хронической или периодической диареей, потерей веса, снижением производства молока, и, в конце концов, смертью. Животные, как правило, заражаются MAP в возрасте до шести месяцев, но признаки болезни Ионе вряд ли проявят себя до двух или более лет после первоначального инфицирования. Такой инкубационный период затрудняет постановление диагноза на ранней его стадии, что приводит к распространению MAP среди других животных.

Диагностика

Есть несколько типов диагностических тестов, применимых к болезни Ионе. Некоторые из них позволяют обнаружить наличие MAP-специфических антител (серологические методы), некоторые зависят от идентификации самой культуры организма (кал, ткань или окружающая среда); есть методы, использующие ПЦР для обнаружения MAP специфических нуклеиновых кислот. Дополнительное подтверждение диагноза может быть получено из оценки клинического состояния животных и от микроскопического изучения образцов тканей на признак патологических повреждений и/или наличия самой MAP.

В целом, точность диагноза зависит от стадии заболевания, самого зараженного организма и различных штаммов MAP. Лабораторные диагностические тесты для идентификации болезни Ионе имеют высокую специфичность, но низкую чувствительность. ELISA, используемый иммунологический метод для определения в крови MAP-специфических антител, обнаруживает лишь около 30% инфицированных животных, находящихся в бессимптомной фазе заболевания. На самых ранних стадиях инфекции, прежде чем инфицированные начинают оставлять MAP в кале и вырабатывать в крови антитела, все тесты, как правило, дают отрицательный результат. По мере того как инфекция прогрессирует и появляются клинические симптомы, большинство из тестов становятся положительными. Диагностика работает лучше всего тогда, когда животные уже начинают ощущать симптоматику болезни Ионе. Отсутствие чувствительной и точной MAP: возможная причина человеческих заболеваний или серьезная угроза в сфере общественного здравоохранения?

диагностики для обнаружения MAP на ранней стадии паратуберкулеза может привести к неоправданному забою скота и экономическим потерям.

Применяемые меры для урегулирования ситуации

Существует ряд различных мероприятий, доступных для ограничения распространения MAP в пределах стада. Животные заражаются MAP через загрязненные корма или воду. Новорожденные могут получить MAP, потребляя зараженное молоко или молозиво. Животное может стать инфицированным внутриутробно, но на практике это доказать весьма непросто.

Большинство молочного крупного рогатого скота стада имеют высокую оборачиваемость (35-40% в год). Таким образом, предотвращение введения новых животных с неопределенным наличием или отсутствием MAP в «чистое» стадо имеет решающее значение в массовом распространении инфекции. **Меры контроля за распространением MAP включают в себя:**

- Разделение рожающих особей от остального стада.
- Качественная гигиена.
- Использование корма для выращивания молодых особей от проверенных коров.
- Использование пастеризованного молока для выращивания молодых особей.
- Своевременная диагностика животных и последующее отделение их от основного стада в случае положительной реакции на MAP.
- Учет свободных от MAP стад с целью обеспечить замену инфицированных особей и своевременную вакцинацию.

Хоть анти-MAP вакцины и ослабляют тяжесть болезни Ионе и могут до 90% снизить последствия заболевания, вакцинация не защищает от всех новых случаев инфицирования. **Вакцинация, как это ни парадоксально звучит, может как стимулировать распространение MAP внутри стада, так и снизить уровень забоя зараженных особей.** В настоящее время MAP-вакцинированных животных следует рассматривать как потенциально инфицированных.

Существует доказательство того, что меры, описанные выше, могут уменьшить распространенность болезни Ионе, но региональные различия в эффективности методов действительно имеют место быть. Это может быть потому, что большинство методов контроля носят добровольный характер, в частности, из-за затрат на замену забиваемых животных. Таким образом, ограниченность проведения испытаний и тестирование новых мер контроля ликвидации MAP и болезни Ионе являются результатом того, что профилактика MAP в настоящее время не входит в список обязательных мероприятий по охране здравоохранения.

Если отталкиваться от того, что доказательств воздействия MAP на людей не существует, значит, нет насущной необходимости забивать весь инфицированный скот. Если MAP патогенна только в отношении животных, то имеет смысл разработать новые эффективные методы контроля распространения инфекции, что поможет согласовать необходимость изоляции зараженных особей для более тщательного их изучения.

MAP и еда

Крупный рогатый скот являются источником молока и мяса на полках наших супермаркетов. Наличие в США инфицированных и страдающих от болезни Ионе животных, поднимает вопрос о вероятной роли инфекции в развитии практически аналогичного заболевания у людей.

Распространенность

Недавнее исследование с использованием методов обнаружения живых MAP в пюр-паках с молоком 2,8% жирности, отобранных с полок американских супермаркетов, показало присутствие MAP-нуклеиновых кислот в 64% образцов. Другие исследования обнаружили MAP в образцах сыра. Существует ряд доказательств того, что MAP могут быть найдены в мясе, но, увы, исследования в этой области крайне

немногочисленны. В целом, различные сведения о заражении MAP молока и остальных продуктах питания были отмечены не только в США, но и в других странах. MAP также были выявлены в речной воде и муниципальном водоснабжении.

Предотвращение наличия MAP в пищевых продуктах может быть обеспечено только благодаря контролю за источниками сырья. Официальное законодательное постановление для обязательного обследования на MAP потребительских продуктов питания следует рассматривать только тогда, когда будет доказано негативное влияние этой инфекции на организм человека. Знание статистики относительно нахождения MAP в еде будет стремиться к нулю до тех пор, пока мы не поймем, действительно ли MAP может вызывать патологии среди населения.

Применяемые меры для урегулирования ситуации

Стандартная пастеризация уменьшает количество культивируемых клеток MAP в молочных продуктах, но не ликвидирует их полностью. Термизация (процесс, который является менее строгим, чем обычная пастеризация) допускает наличие высокой плотности клеток MAP. **Мероприятия для снижения концентрации MAP в молоке могут включать в себя:**

- Ультравысокотемпературную пастеризацию.
- УФ-облучение.
- Обезвоживание с последующей дегидратацией.
- Замораживание перед пастеризацией.
- Гамма-облучения.
- Центрифугирование.
- Использование микобактериофагов (вирусов, которые ликвидируют микобактерии).

Проблемы общественного здравоохранения

Ученые и органы общественного здравоохранения не знают, является ли мясные и молочные продукты, зараженные MAP, опасными для общественности. Ответственность за вероятные последствия от MAP в потребительских товарах в США, в этом случае, будет ложиться на Department of Agriculture, the Food and Drug Administration, на Centers for Disease Control and Prevention и другие федеральные ведомства. Ответ на вопрос, пригодны ли MAP-инфицированные животные для употребления в пищу человеком зависит от того, является ли MAP зоонозным патогеном.

Целесообразность принятия мер предосторожности в условиях вероятного, но неопределенного риска для здоровья человека путем воздействия MAP из пищи, является горячо обсуждаемой темой. Сколько нужно предоставить доказательств, которые заставят задуматься высшие органы управления ограничить появление на полках магазинов зараженных продуктов питания? В настоящее время, с учетом имеющихся методов, мы можем хотя бы частично исключить больных животных от принятия участия в процессе производства молока, сыра, мяса, творога и др.

MAP в качестве патогенной инфекции для человека

В основе спора о MAP как о причине болезни Крона лежит следующий вопрос: **может ли MAP развить заболевание в человеческом организме?** Факт обнаружения MAP в человеческом теле уже давно зафиксирован. Кроме того, частота обнаружения MAP у пациентов с БК в целых 7 раз выше, чем у здоровых людей! Тем не менее, окончательной причинно-следственной связи между MAP и болезнью Крона установлено не было.

Существующие методы обнаружения MAP в кишечной ткани являются инвазивными и, как правило, применяются в отношении лиц, страдающих от тяжелых стадий БК. Взаимосвязь между MAP и начальной стадией болезни Крона нельзя отождествлять с таковой в тяжелых случаях заболевания, к тому же роль MAP в этиологии БК все также остается недоказанной.

Вопросы, на которые нам необходимо ответить:

- Является ли MAP патогенной в отношении чересчур чистоплотных людей?
- Взаимодействует ли MAP с другими патогенами и, если «да», может ли она действовать самостоятельно?
- Является ли MAP оппортунистской инфекцией?
- Является ли MAP просто синантропной бактерией, не влияющей на жизнь человека?

MAP однозначно патогенна для животных и может быть опасна для человека, однако, до тех пор, пока методы диагностики не станут более чувствительными и специфичными, споры о роли MAP в развитии болезни Крона будут продолжать вестись.

Вполне возможно, что MAP играет роль не только в течении БК и других желудочно-кишечных дисфункциях, но и в различных других заболеваниях. MAP также была обнаружена в тканях вне желудочно-кишечного тракта, у пациента с ВИЧ, в лимфатической ткани и в грудном молоке кормящей матери.

Несмотря на то, что численность MAP-организмов, выделенных из тканей, была крайне мала, есть подозрение на участие ее в развитии олигобациллярных заболеваний, вызванных другими микобактериями. Туберкулоидная проказа, вызванная *M. leprae*, является очень хорошим примером микобактериальной болезни, при которой сами бактерии, как правило, пассивны, а повреждение тканей носит иммунологический характер. Поскольку MAP не признается в качестве первопричины БК, врачи не считают своим долгом проверять пациента на наличие в его организме этой инфекции. Усугубляет эту проблему отсутствие доступных неинвазивных и специфических диагностик для идентификации MAP.

Отмеченные различия между животными и человеческими штаммами MAP создают еще один барьер для понимания возможной роли инфекции в развитии болезни Крона. Если MAP передается от инфицированного скота к человеку через зараженную пищу, проверка на наличие именно животного штамма MAP в организме человека может быть полезна для определения эпидемиологии инфекции. Тем не менее, идентификация по конкретным штаммам редко выполняется, так что неизвестно, могут ли животные штаммы MAP привести к человеческим заболеваниям.

Распространенность

Ограниченное количество исследований, изучающих нахождение MAP в тканях человека, показали, что распространенность MAP составляет от 2% до 20% в различных контрольных группах, а также 25-35% у лиц с БК. Степень распространенности MAP в общем среди населения в настоящее время неизвестна, так как основной метод для выделения MAP - это биопсия ткани кишечника, и здоровые люди обычно отказываются от этой процедуры. Для выявления популяции MAP требуются более простые, не инвазивные методы диагностики.

Инфекции MAP следует отличать от инфекций, вызванных другими агентами. Необходимо начать с определения верного этиологического агента; это послужит основой для понимания эпидемиологии заболевания и принятием дальнейших шагов во благо общественного здравоохранения.

Патология

Симптоматика, проявляемая у животных с MAP, похожа у людей с БК. Более того, вполне возможно, что MAP может вызвать заболевание других органов (например, легких), но диагностика в таких случаях куда более ограничена, чем при БК. MAP может принимать участие в развитии золотухи, язвенного колита, саркоидоза и диабета первого типа. Также, есть отдельные сообщения о распространении MAP в крови больного (бактериемия).

Диагностика

Индивидуальные исследовательские лаборатории разработали целый ряд различных анализов и методов диагностики MAP у животных и людей, в том числе бактериальные посевы, методы ПЦР для выявления культивированных бактерий или для идентификации ДНК MAP в ткани, иммунологические методы (пролиферации клеток и серологический анализ) и гистопатологические исследования. Образцы для диагностики MAP-инфекции включают в себя клетки крови или сыворотки, стул, грудное молоко, биопсию ткани кишечника и ткани от резекции кишечника. Диагностика проводится на пациентах, как правило, с тяжелой стадией болезни. На ранней стадии болезни Ионе, несмотря на доказанную роль MAP в ее развитии, иммунологические анализы оказались недостаточно чувствительными, так что не удивительно, что серологические исследования с целью выявления MAP-инфекции у здоровых людей или пациентов с желудочно-кишечными расстройствами или другими проблемами с ЖКТ не дают должных результатов.

С нормативно-правовой и коммерческой точек зрения, нет никаких утвержденных тестов для выявления MAP в человеке. MTD тест GenProbe's Amplified™, часто используемый для обнаружения MAP, не является специфическим по отношению к этой бактерии и может быть положительным для других микобактерий группы *M. avium complex*. К сожалению, более точные методы диагностики MAP не распространены в клинических лабораториях, поэтому выделение и идентификация MAP оказывается весьма неточной при использовании существующих популяризованных способов дифференциации.

Профилактика

Несмотря на десятилетия исследований, в настоящее время не существует универсальных и эффективных вакцин даже против других микобактерий, например, *M. tuberculosis* или *M. leprae*. Основываясь на этих известных патогенах, есть шанс разработать вакцину против MAP с использованием постгеномных методов, но до сих пор все предпринимаемые попытки не принесли должных результатов. Геномы *M. tuberculosis*, *M. leprae*, *M. avium* и *M. paratuberculosis* были секвенированы, и в будущем сравнительный анализ полученных данных может дать направление для разработки вакцины против MAP. Однако, до тех пор, пока MAP не рассматривается в качестве патогена для человеческого организма, усилия ученых будут направлены совсем в другое русло.

Животная модель в качестве основы изучения воздействия MAP на человека

Если предположить, что MAP для человека является патогеном и может вызывать различные заболевания, то она будет одной из немногих инфекций, для которой постулаты Коха были удовлетворены еще до возникновения заболевания. MAP может быть выведена из жвачных животных с болезнью Ионе с возможностью повторного инфицирования такого же рода животных. **MAP безоговорочно вызывает болезнь Ионе.**

Если какой-либо желудочно-кишечный синдром человека равносителен болезни Ионе, жвачные животные могли бы помочь в выборе методов диагностики и создания препаратов против MAP. Тем не менее, связь между воспалительными заболеваниями кишечника и болезнью Ионе – весьма спорный момент, и патологии этих заболеваний, несмотря на схожесть симптоматики, также имеют определенные различия. Ветеринарный опыт лечения болезни Ионе помог определить потенциальные способы диагностики инфекций MAP у человека, но ни один из этих тестов не было до сих пор апробирован; как правило, они недоступны в обычных клинических лабораториях. В связи с тем, что лечить животных от MAP не представляется экономически выгодным занятием, никаких заметок об избавлении людей от этой микобактерии в ветеринарной литературе не наблюдается.

В настоящее время есть небольшие животные модели с болезнью Крона, однако, степень их значимости для человека остается под сомнением.

Лечение

Если МАР является инфекционной причиной болезни Крона, существует только один терапевтический метод, который можно было бы рассмотреть: антибактериальная терапия. В настоящее время в качестве средств терапии рекомендуются лекарства, предположительно обладающие свойствами нейтрализации МАР (макролиды, рифамицины, клофазимин и этамбутол). В связи с тем, что перечисленные препараты оказывали положительное влияние на некоторых людей с болезнью Крона, они были выбраны для клинической оценки терапии против МАР. На сегодняшний день нет таких антибиотиков, которые были бы специально разработаны для лечения МАР.

Как и в случае с другими микобактериальными заболеваниями (в том числе пневмонией, туберкулезом и проказой), множественная лекарственная терапия с агентами из разных классов антибиотиков может помочь устранить МАР и избежать развития резистентности. Существует доказательство того, что существующие противовоспалительные агенты могут также непосредственно влиять и на МАР. Эту информацию следует учитывать в разработке и анализе исследований, так как большинство пациентов с подозрением на МАР-инфекции лечат сначала воспаленные участки желудочно-кишечного тракта, прежде чем подключить к основной терапии антибиотики.

МАР в качестве первопричины болезни Крона

Ученые и врачи обсуждают вероятность того, что МАР, вызывающая диарею, потерю веса и непроходимость у животных, может являться и причиной болезни Крона у людей. Так как болезнь Ионе имеет ряд схожих симптомов с БК, вполне возможно, что связь между зараженными животными и человеческим заболеванием имеет место быть. На самом деле, корреляция между болезнью Крона и болезнью Ионе впервые была проведена в 1913 г. Ранее, John McEwan Dalziel рассказывал о нескольких пациентах с хроническим кишечным энтеритом, очень похожим на кишечный туберкулез. Он сравнил это новое заболевание с заболеванием крупного рогатого скота, **паратуберкулезом**, описанным впервые в 1894 г.

«Гистологические и симптоматические сходства между этими заболеваниями можно обнаружить невооруженным взглядом. Во многих случаях отсутствие кислотоустойчивых микобактерий показали бы четкое различие между ними, однако, гистология болезней настолько схожа, что дифференцировать их представляется весьма затруднительным занятием».

John McEwan Dalziel

Сходства клинических проявлений болезни Крона и болезни Ионе

| Симптом | Болезнь Крона | Болезнь Ионе |
|--------------------------------------|----------------------|---------------------|
| <i>Диарея</i> | Да | Да |
| <i>Прерывистая диарея</i> | Да | Да |
| <i>Боли в животе</i> | Да | Неизвестно |
| <i>Потеря веса</i> | Да | Да |
| <i>Кишечная непроходимость</i> | Да | Нет |
| <i>Вздутия в подвздошной области</i> | Да | Нет |
| <i>Кровь в стуле</i> | Редко | Редко |
| <i>Рвота</i> | Да | Нет |
| <i>Периоды ремиссии</i> | Да | Да |

Роль МАР в качестве этиологического агента болезни Крона обуславливается следующими фактами:

1. Сходство симптоматики болезни Крона и паратуберкулеза.
2. Наличие этой инфекции в кишечнике, крови, или грудном молоке некоторых людей с БК.
3. Доказанная эффективность антибиотиков в терапии БК.

4. Повышенная в 7 раз частота обнаружения МАР у пациентов с БК по сравнению с обычными людьми.

Поскольку МАР могут обитать в почве, любое жвачное животное может ей заразиться. Но откуда у людей возникает болезнь Крона?

МАР содержится в питьевой и речной водах, прилегающих к пастбищам. Инфицирование МАР также может произойти при попадании загрязненного мяса, молока или молочных продуктов на прилавки магазинов. Молекулярный анализ МАР людей и животных показывает поразительное сходство. Воздействие энтеропатогенных бактерий на человека через обычные продукты питания представляет нам весьма тревожную перспективу.

Генетическая предрасположенность

Предрасположенность к БК является мультигенетической и может быть следствием сбоя в работе целого ряда генов.

Недавние исследования сравнили характер экспрессии генов здоровых людей и людей с БК. Результатом исследований стала идентификация девяти генов, связанных с восприимчивостью к этому заболеванию. Одна из теорий предполагает, что дефекты в иммунной реакции на внутриклеточные патогены могут быть причиной возникновения болезни Крона. Однако, подобные исследования в отношении конкретно МАР проведены не были.

Генетическая предрасположенность в иммунном ответе на воздействие бактерий, однако, не является достаточной для прогнозирования развития БК. Мы считаем, что помимо генетики в «работу» вовлекаются и экологические факторы.

Диагностика болезни Крона

Основным барьером в диагностике БК является разнообразие симптомов у разных людей, что приводит к путанице и постановке неправильного диагноза (например, вместо БК может быть диагностирован неспецифический язвенный колит). Диагностика БК в настоящее время производится путем объединения клинических наблюдений с рентгенологическими, эндоскопическими и гистологическими исследованиями.

Первичная симптоматика болезни Крона может варьироваться в зависимости от возраста человека, анатомического расположения пораженной ткани, а также поведением самого заболевания (локализация, степень воспаления, осложнения и т.п.).

Распространенность болезни Крона варьируется от страны к стране и часто меняется даже среди различных этнических групп в пределах одного места обитания. Ежегодная частота возникновения целиакии составляет примерно 6-10 случаев на 100 000 населения. БК в этом плане опережает целиакию примерно в 20 раз: приблизительно 150 из 100 000 человек в США страдают от этого недуга. В канадской провинции Манитоба показатель распространенности ВИЧ примерно 250/100 000. Вероятно, среди азиатских популяций БК более распространена, чем у европеоидной расы.

Лечение болезни Крона

В настоящее время у нас нет лекарства, способного избавить человека от болезни Крона. Медикаментозную терапию БК можно разделить на лечение для индукции ремиссии и лечения для ее поддержания.

Основная цель терапии БК сегодня - контроль заболевания за счет увеличения времени пребывания в ремиссии. Поскольку современные методы терапии БК подавляют только симптомы заболевания, около 80-90% пациентов рано или поздно вынуждены пройти через операцию. В среднем, 50% больным в дальнейшем требуется вторая операция, в связи с непредсказуемыми осложнениями и усугублением тяжести заболевания.

Препараты для терапии болезни Крона

| Класс | Наименование |
|--------------------------------|----------------------|
| <i>Противовоспалительные</i> | Сульфасалазин |
| | Олсалазин |
| | Балсалазид |
| | Месаламин |
| <i>Гормоны</i> | Преднизон |
| | Дексаметазон |
| | Преднизолон |
| | Гидрокортизон |
| | Будесонид |
| <i>Антибиотики</i> | Ципрофлоксацин |
| | Метронидазол |
| | Этамбутол |
| | Рифабутин |
| | Кларитромицин |
| | Азитромицин |
| | Рифаксимин |
| | Клоfazимин |
| <i>Иммунодепрессанты</i> | Азатиоприн |
| | Меркаптопурин |
| | Метотрексат |
| | Циклоспорин |
| | Такролимус |
| <i>Биотерапия</i> | Инфликсимаб |
| | Адалимумаб |
| | Талидомид |
| | Натализумаб |
| | Аликафорсен |
| | Сарграмостим |
| | Цертолизумаб |
| <i>Стволовые клетки</i> | Трансплантация |
| <i>Антидиарейные препараты</i> | Дифеноксилат |
| | Парегорик |
| <i>Пробиотики</i> | Сахаромицеты Боларди |
| | VSL #3 |
| <i>Паразиты</i> | Нематоды |
| | Власоглавы свиные |
| <i>Неизвестные механизмы</i> | Налтрексон |

Если предположить, что БК вызывается MAP или любым другим микроорганизмом, применение соответствующих антибиотиков будет иметь решающее значение в терапии заболевания.

На сегодняшний день нет доступных антибиотиков, которые были бы разработаны специально для лечения MAP-индуцированной болезни Крона. Предполагается, что, если MAP является этиологическим агентом БК, сочетание основной лекарственной терапии и антибиотиков, в конечном счете, может быть рекомендовано в качестве эффективного метода лечения болезни Крона.

Большинство препаратов, используемых для лечения БК, имеют серьезные побочные эффекты, и их применение требует долгосрочного мониторинга состояния пациента.

Доказательства и опровержения роли MAP в развитии болезни Крона

Доказательства возможной взаимосвязи между MAP и БК включают в себя сходство в симптоматике с болезнью Ионе, иммунного ответа, результаты анализа биопсии, а также эффективность antimикобактериальных препаратов. Эпидемиологическая картина сходства между паратуберкулезом и болезнью Крона включает в себя следующее:

- Заболевания, в большинстве случаев, проявляется в раннем возрасте.
- Длительный период времени между началом заболевания и появлением клинической картины (инкубационный период).
- Проявление симптоматики, как правило, после полового созревания.
- Целевой орган - подвздошная кишка.
- В качестве ответа организма выступает хроническое гранулематозное воспаление.

Иммунный ответ на MAP при болезни Крона

Результаты иммунологического обследования пациентов с БК неоднозначны; некоторые больные специфически реагируют на антигены MAP, в то время как у других такой реакции не наблюдается. Последовательные и повторяющиеся иммунные реакции на MAP у пациентов с БК будет весомым признаком того, что MAP играет непосредственную роль в развитии этого заболевания. Однако, отсутствие иммунного ответа не обязательно означает отсутствие инфекции. Например:

- Если MAP вызывает БК, и восприимчивость иммунитета к MAP зависит от дисфункциональных расстройств иммунных реакций, то иммунокомплементные клетки больного БК могут быть нечувствительны к MAP. Иммунные реакции на MAP у крупного рогатого скота очевидны только на последней стадии заболевания, когда клинические признаки и симптомы болезни уже практически невозможно повернуть вспять. Таким образом, отсутствие иммунных ответов на MAP на ранней стадии БК может являться нормой.
- Результаты проводимых тестов на пациентах с болезнью Крона могут быть искажены вследствие использования иммуномодулирующей терапии.
- Поскольку симптомы БК непостоянны, также возможно, что не все случаи БК, а лишь часть может быть изначально вызвана MAP, а остальные же являются следствием воздействия других экологических агентов. Обследование всех людей с БК в определенном географическом регионе на предмет иммунологических реакций может продемонстрировать, что только часть населения с болезнью Крона будут иметь MAP антитела. Однако, наличие антител – это всего лишь косвенный признак воздействия микобактерий на организм, и в итоге совсем не обязательно MAP может быть связана с БК.

Биопсия тканей людей с болезнью Крона и MAP

Амплификация нуклеиновых кислот (которые зависят от ДНК или РНК) может помочь обнаружить MAP в пораженных тканях людей с болезнью Крона и неспецифическим язвенным колитом. Результаты могут быть весьма вариативными, и вот почему:

1. Распределение и количество бактерий может варьироваться между отдельными людьми с БК или изменяться в зависимости от конкретных симптомов.
2. Распространенность инфекции зависит от местоположения больного.
3. Различные методы могут применяться различными учеными и быть по-разному интерпретированы.
4. Только часть случаев болезни Крона связана с MAP.

В связи со строгими условиями, необходимыми для роста MAP в пробирке, трудно выявить MAP методом посева. Крайне важно распространить информацию об успешных опытах, достигнутых в одной лаборатории, в другие лаборатории, участвующие в определении этиологии болезни Крона. Пока более последовательные методы культивирования MAP находятся в процессе разработки, молекулярные методы представляют собой наиболее эффективные решения для обнаружения MAP.

| Доказательства участия MAP в этиологии БК | Опровержения участия MAP в этиологии БК |
|--|--|
| MAP вызывает у животных болезнь Ионе, симптоматика которой крайне схожа с проявлениями болезни Крона у людей. | У молочных фермеров с БК во время исследований не наблюдалось более высоких показателей MAP. |
| MAP была обнаружена в молоке, сыре, мясе и воде, т.е. в продуктах питания, предназначенных для употребления их человеком, что указывает на возможный путь заражения. | В некоторых аспектах, болезнь Крона и болезнь Ионе все же имеют различия. |
| Гены, связанные с БК, позволяют предположить, что неадекватная реакция на внутриклеточный патоген может вызвать это заболевание, а MAP как раз-таки и является таким возбудителем. | Иммунные ответы на MAP или антитела к ним не были выявлены у людей с БК |
| У людей с БК была обнаружена повышенная серологическая реакция на MAP. | Не было зафиксировано случаев ухудшения самочувствия больного при использовании иммунодепрессантной терапии (к примеру, блокаторы ФНО-α могут спровоцировать активацию <i>M. tuberculosis</i>). |
| MAP была обнаружена с помощью молекулярных и гистологических методов исследования в тканях людей с БК, а также в их крови. | В контролируемых клинических испытаниях люди с БК подвергались терапии антибиотиками в течение шести месяцев, в результате чего стало ясно, что устойчивый ответ на лечение не достигнут. |
| MAP обнаруживается в крови людей с БК посредством метода Циля-Нельсена. | |
| MAP культивируется из различных тканей и жидкостей людей с БК. | |
| Одно клиническое исследование выявило сильный и продолжительный ответ на антимикробную терапию людей с БК, в то время как другое исследование продемонстрировало кратковременные улучшения самочувствия больных. | |
| У людей с БК в 7 раз чаще обнаруживается MAP, нежели у "здорового" населения. | |

Антибиотики в терапии болезни Крона

Есть информация об успешном лечении БК при помощи препаратов против *M. avium*. Исследования показали, что комбинация антибиотиков при БК привела к значительному, но кратковременному улучшению самочувствия больного по сравнению с гормональной терапией.

Предварительные клинические испытания противотуберкулезной терапии, используемой для борьбы с туберкулезной инфекцией (рифампицин, изониазид, этамбутол и пипразинамид), в отношении БК не принесли должного результата. Эти препараты, однако, крайне специфичны для *M. tuberculosis*, и даже *M. avium* гораздо менее восприимчива к любому из этих лекарств, чем вышеупомянутая *M. tuberculosis*. Впрочем, таких результатов и следовало ожидать.

Во время исследований наличие у людей БК MAP до и после лечения с помощью анти-*M. Avium* терапии проверяется не систематически, так что неизвестно, действительно ли эти препараты уменьшают количество

бактерий MAP или нет. Успешное применение этих лекарственных средств при лечении болезни Крона может быть связано либо с их косвенной эффективностью во взаимодействии с MAP, либо из-за других свойств этих препаратов или их влияния на другие бактерии.

Принимая во внимание удачный опыт лечения антибиотиками некоторых пациентов, можно сказать, что большинство врачей пассивно относятся к противомикробной терапии в отношении своих больных, и что того количества исследований, проводимых с целью поиска лучшего лекарства при болезни Крона, явно недостаточно. Вполне вероятно, что именно отсутствие безоговорочных доказательств в отношении этиологии БК и является тем камнем преткновения, из-за которого изучению влияния антибиотиков на организм людей с болезнью Крона уделено так мало внимания. С другой стороны, использование антибиотиков в отношении болезни без известной инфекционной этиологии может вызвать резистентность MAP или других бактерий, усугубив проблему выбора верного способа терапии. Несмотря на эти оговорки, врачи рекомендуют продолжать оказывать помощь пациентам с БК любыми способами, которые они считают необходимыми.

В настоящее время не было приложено никаких серьезных усилий для изучения возможных связей между MAP и последующим развитием болезни Крона. Во-первых, проблема кроется в недостатке данных относительно распространения MAP в окружающей среде. Во-вторых – отсутствие доступных, чувствительных и специфических методов диагностики MAP в организме человека. Необходимо проводить эпидемиологические исследования, чтобы обнаружить возможную зависимость БК от MAP.

Для того, чтобы продвинуться в изучении этого вопроса, необходимы дополнительные исследования и поддержка со стороны государства; совместные усилия ученых и врачей помогут нам понять, имеет ли место быть инфекционная составляющая в этиологии болезни Крона.

Рекомендуемые исследования для определения MAP в качестве человеческого патогена

Перспектива того, что MAP может играть определенную роль в развитии или БК, кажется весьма позитивной. Как только положение дел станет яснее, в сферах сельского хозяйства, продовольственной безопасности общественного здравоохранения произойдут заметные перемены. Если общественность будет заинтересована в исследованиях взаимосвязи MAP и БК, это даст больным практически шанс «заново родиться».

Участники коллоквиума настоятельно призывают ученых проводить строгий контроль за участниками исследования и разработать эффективные методы диагностики MAP в целях предоставления точных данных, необходимых для достижения консенсуса в научных и регулятивных сообществах по этому вопросу.

Приоритеты

У нас нет простых ответов на вопросы о роли MAP или других инфекций в развитии болезни Крона. Вместо того, чтобы уходить от возникающих препятствий в изучении этих проблем, ученым и врачам нужно заполнить пробелы в их знаниях относительно патогенеза и этиологии БК.

Две основные неопределенности выглядят следующим образом:

1. Может ли человек заразиться MAP через пищу?
2. Как человеческий организм отреагирует на MAP?

Для того, чтобы познать истину, международное научное сотрудничество должно наладить связи с различными заинтересованными сторонами. Микробиологи, ветеринары, эпидемиологи, чиновники, врачи, пациенты... Все вы должны объединиться ради одной общей цели – улучшения качества жизни каждого из нас! Если MAP связана с болезнью Крона, и ее нахождение в продуктах питания в итоге окажется опасной для здоровья человека, применение соответствующих методов в ответ на эти данные поможет предотвратить

распространение заболевания и открыть миру способ его лечения, как случилось с туберкулезом в начале 20-го века.

Необходимые для изучения вопросы

Передача MAP человеку

MAP находится в животных с болезнью Ионе, в отходах животноводства, на фермах, и, возможно, в пище и воде, но до сих пор не ясно, может ли человек заразиться MAP под воздействием этих источников. И если они инфицируются MAP, приводит ли это к развитию болезни Крона?

Первостепенное значение в вопросе заразности MAP касается идентичности штаммов MAP человека со штаммами MAP животного. Являются ли они генетически взаимосвязанными? Для решения этого вопроса потребуются надежные и очень специфические методы, а также возможность выделения MAP из тканей человека. Генетические сходства и различия могут также определить потенциальные факторы вирулентности.

Однако, оценить трансмиссивность MAP в настоящее время весьма затруднительно. Потенциальным источником MAP для человека является загрязненное молоко от больных животных, но заведомо кормить подопытного инфицированными продуктами – неэтично. Проверять же пациентов на наличие у них MAP, не зная заведомо, что и когда они ели, лишено смысла, если мы хотим узнать о возможности передачи этой микобактерии через пищу. Лучшим выходом из этой ситуации будет использование подопытных животных: смогут ли они заразиться MAP через продукты питания? Болезнь Ионе у коз, чьи патофизиологические симптомы являются наиболее близкими к болезни Крона, может послужить животной моделью для этого эксперимента. В группах животных, которых кормили загрязненным и «чистым» молоком (или другой пищей) может быть сопоставлена частота возникновения болезни Ионе, а сам факт заражения подтвердит трансмиссивные свойства этой бактерии. Кроме того, наличие «добротной» животной модели позволит исследователям определить относительную инфекционность и патогенность штаммов MAP, выделенных у человека.

MAP, передаваемая людям из источников окружающей среды, в частности, из MAP-инфицированного скота, могла бы быть обнаружена и оценена с помощью эпидемиологических исследований людей, проживающих в географических районах с низким уровнем распространения паратуберкулеза, в том числе Швеции, Исландии и восточных районах Австралии, по сравнению с регионами с высоким уровнем болезни Ионе. Для проведения такого рода исследований необходимо разработать и стандартизировать соответствующие методы. Важно также оценить степень распространения MAP в продуктах питания в конкретных регионах. Если MAP-инфекция будет отсутствовать или ее распространение окажется значительно снижено в регионах с низким количеством больных животных, и, соответственно, повышено в областях с высокой концентрацией инфицированных особей, можно будет сделать уверенное заключение: *люди могут заразиться от больных животных*. Тем не менее, международная торговля значительно снижает точность такого рода исследований. Поэтому, необходимо контролировать факт наличия в том или ином регионе «собственных» продуктов питания, если мы хотим добиться максимальной достоверности результатов.

Если установить, что люди, подверженные инфицированию MAP, становятся предрасположенными к развитию у них той или иной патологии, все заинтересованные стороны должны будут узнать о последствиях и оценить вероятные риски. Подобные исследования не будут легкими, потому что так или иначе существует вероятность ложноположительных реакций на MAP. В некоторых случаях могут понадобиться новые животные модели с целью решения вопросов патогенеза и терапии MAP и БК.

Иммунный ответ человеческого организма на MAP

Одним из способов оценки воздействия (но не обязательно инфекции или болезни) на организм является определение иммунологических реакции человека на MAP как в общей популяции, так и в конкретных группах населения, таких как люди с БК. Возникновение иммунного ответа на большинство микобактерий, особенно являющихся внутриклеточными, занимает месяцы. Из-за их внутриклеточной среды обитания, эти

возбудители практически невозможно полностью искоренить. С течением времени иммунный ответ ускоряется и расширяется, чтобы включить в себя всевозможные реакции и факторы. Разрушение ткани при, например, туберкулезе или проказе, в значительной степени является результатом постоянной антигенной стимуляции иммунных клеток, что приводит к иммунологическому хаосу.

Чтобы понять реакцию иммунной системы человека после инфицирования MAP, было бы полезно сначала определить контрольные сроки, тип и длительность воспалительных и иммунных ответов в животной модели, в которой симптоматика последствий действия MAP крайне схожа с болезнью Крона. Это, по крайней мере, уменьшило бы разнообразие иммунных реакций, которые должны быть исследованы в организме человека.

Базовое понимание текущих MAP-специфических клеточного и гуморального иммунного взаимодействий, которые представляют собой реакцию организма человека на MAP, может способствовать выявлению специфических иммунологических реакций, происходящих у людей с БК. Конечно, вследствие того, что не у всех больных в тканях и крови наблюдается концентрация MAP, такие исследования будут полезны только для определенного круга лиц. Однако, для MAP-инфицированных больных могут быть разработаны дополнительные методы диагностики с целью выявления ранних симптомов начавшегося обострения или проверки эффективности текущей используемой терапии.

Но что предпринять, если MAP не окажется единственной причиной БК? Что, если главная задача MAP-инфекции - модулировать иммунный ответ организма на другие патогены? Или, например, направить иммунную реакцию с одной бактерии на другую, позволяя первой закрепиться в тканях, что, как правило, не происходит во время нормальной работы иммунитета? Понимание "типичной" иммунной реакции человека на MAP может позволить ученым воссоздать более сложную последовательность первоначального развития болезни Крона (может, в этиологии принимает участие не один патоген, а два, три и т.д.).

Есть сведения о том, что и у некоторых здоровых людей в крови были обнаружены клетки MAP. Если скрининг-тесты будут обладать высокой специфичностью к MAP, эти здоровые MAP-инфицированные люди могут быть просто пропущены еще на стадии отбора. Исследования, включая эти данные, могли бы предоставить информацию об иммунно-доминантных MAP-антителах, а также сравнить их с характером иммунного ответа у людей с болезнью Крона.

На данный момент человеческая MAP-инфекция является наиболее очевидной причиной болезни Крона. Пациенты, как правило, проходят лечение мощными противовоспалительными средствами или иммунодепрессивными препаратами. Нет никакой возможности оценить роль MAP при БК, если на данный момент человек находится под влиянием такого рода лекарств. Если диагностика MAP в отношении человека все еще представляется затруднительной, в таких случаях нам на помощь должна прийти животная модель. С помощью нее мы сможем как изолированно изучать активность MAP, так и сочетание ее с другими патогенами.

Терапия MAP

Антимикробные агенты, доступные для лечения MAP-инфекции или болезни Крона, изначально не были разработаны специально для ликвидации MAP и представляются недостаточными для обеспечения значительных долгосрочных результатов. Рекомендуется проведение клинических исследований по созданию эффективных терапевтических схем с ныне существующими антибиотиками. Дальнейшие исследования также должны быть направлены на выявление новых и эффективных противомикробных препаратов для избавления человека от MAP.

Примечания по устранению некоторых проблем

Существует барьер для выполнения исследований MAP в роли этиологического агента болезни Крона, в качестве которого выступает отсутствие репродуктивных, чувствительных и специфических методов диагностики. Новые инструменты для идентификации и выделения MAP имеют решающее значение к каждой

рекомендации, изложенной в настоящем документе, и без них ученые не смогут двигаться вперед. Лаборатории общественного здравоохранения и Центры США по контролю и профилактике заболеваний ясно дали понять о своем бессилии в культивировании MAP, что затрудняет последующую диагностику и аналитику. Также, методы идентификации человеческого и животного штаммов MAP помогут ученым сдвинуться наконец с «мертвой точки», заложив основы для дальнейших исследований.

Четкое разделение инфицированных MAP людей с БК от неинфицированных поможет определить роль MAP в этиологии болезни Крона. Мы настоятельно рекомендуем прибегнуть к межлабораторным совместным работам по созданию должных методов обнаружения MAP. Исследования в этой области часто требуют сравнение результатов анализа различных лабораторий.

После того, как будут разработаны более эффективные методы, должны быть созданы лаборатории по диагностике MAP. Сильная, непредвзятая и компетентная программа оценки качества полученных результатов займет решающую позицию для установления и поддержания доверия в области исследований MAP и клинических испытаний относительно этой проблемы.

Должна быть создана целевая группа, продвигающая вперед эту область деятельности и развивающая более конкретные рекомендации по разработке усовершенствованных методов обнаружения MAP.

Для поиска MAP в людях, учеными должны быть использованы все доступные ткани и жидкости человеческого организма, в т.ч. кровь, слизистая оболочка кишечника, стул, экссудат ободочной кишки и др. Кроме того, на предмет MAP необходимо изучать почву, воду, а также продукты питания.

Рекомендации

- Проведение исследований с целью обнаружения и стандартизации чувствительной и специфичной к МАР диагностики, а также возможности культивировать МАР из ткани человека являются обязательным условием успешности кампании.
- Ученые должны рассмотреть вопрос о заразности МАР и подтвердить или опровергнуть идентичность штаммов животной и человеческой МАР.
- Следует изучить потенциальные факторы вирулентности в человеческом МАР и определить, может ли МАР передаваться от человека к человеку.
- Исследователи должны разработать более эффективные модели животных для оценки воздействия МАР на человеческий организм и для оценки эффективности потенциальных методов лечения.
- До тех пор, пока фактические риски воздействия МАР на человека не будут доказаны, не имеет смысла в качестве первоочередной цели выбирать систематические проверки продуктов питания на наличие в них этой инфекции.
- Создание эффективных анти-МАР препаратов.

Несколько слов о принципе предосторожности

Принцип предосторожности в качестве официальной концепции произошел от немецкой социальной и правовой традиции в начале 20-го века. В некотором смысле, он опирается на такие афоризмы, как "унция профилактики стоит фунта лечения", "лучше быть осторожным, чем потом сожалеть о случившемся" и "посмотри, прежде чем прыгнуть". По другой версии, принцип предосторожности произошел от древней медицинской заповеди "не навреди".

В 1998 г. Wingspread Statement on the Precautionary Principle резюмирует принцип таким образом:

«Когда деятельность повышает риски вреда для здоровья человека или окружающей среды, должны быть приняты предупредительные меры, даже если некоторые причинно-следственные связи не полностью обоснованы с научной точки зрения».

Science and Environmental Health Network

При принятии решения о том, как использовать этот принцип, один отдает предпочтение анализу затрат и выгод, а другой, прежде чем действовать, предпочитает выждать время для получения дополнительной информации.

Как государственные органы власти должны оценивать принцип предосторожности в отношении МАР и БК? Есть признаки того, что МАР является патогенной для человека. МАР обнаружена у крупного рогатого скота и в продуктах, которые они производят. Значительное число граждан США страдают от болезни Крона.

Участники этого коллоквиума не были готовы сегодня рекомендовать органам общественного здравоохранения вводить изменения в обязательную регуляторную политику сельского хозяйства и продовольственной безопасности, чтобы исключить возможные пути воздействия МАР на человека. Однако, мы отвечаем важность рассмотрения этого доклада всеми службами, занимающихся вопросами сельского хозяйства и общественного здравоохранения. С помощью соответствующих фондов и коллабораторий, ученые и клинические сообщества будут продолжать выявлять пробелы в знаниях относительно МАР.

Источники

1. Crohn, B.B., L. Ginzburg, G.D. Oppenheimer. 1984 Regional ileitis. A pathological and clinical entity. (Landmark article 1932). JAMA 251: 251:73-79.
2. Ashford, D., B. Imhoff, F. Angulo, and the FoodNet working group, CDC, Atlanta, GA. Over a Half-Million Persons May Have Crohn's Disease in the United States. Infectious Diseases Society of America. San Francisco, CA, October 2001.
http://www.cdc.gov/enterics/publications/24_ashford_2001.pdf
3. Ferwerda, G., B.J. Kullberg, D.J. deJong, et al. 2007. Mycobacterium paratuberculosis is recognized by Toll-like receptors and NOD2. J. Leukoc Biol 82:1011-1018.
4. Wellcome Trust Case Control Consortium. 2007. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. Nature 447:661-678.
<http://www.nature.com/nature/journal/v447/n7145/pdf/nature05911.pdf>
5. Parkes, M., J.C. Barrett, N.J. Prescott, et al. 2007. Sequence variants in the autophagy gene IRGM and multiple other replicating loci contribute to Crohn's disease susceptibility. Nature Gen 37:830-832.
6. Turenne, C.Y., R. Wallace, Jr., and M.A. Behr. 2007. Mycobacterium avium in the post-genomic era. Clin Micro Rev 20:205-229.
<http://cmr.asm.org/cgi/reprint/20/2/205.pdf>
7. Harris, N.B., R.G. Barletta. 2001. Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in Veterinary Medicine. Clin Micro Rev 14:489-512.7.
<http://cmr.asm.org/cgi/reprint/14/3/489.pdf>
8. Chiodini, R.J., H.J. Van Kruiningen, R.S. Merkal. 1984. Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): the current status and future prospects. Cornell Vet 74:218-262.
9. Committee on Diagnosis and Control of Johne's Disease, National Research Council. 2003. Diagnosis and control of Johne's disease. The U.S. National Academy of Sciences Board on Agriculture and Natural Resources Report. National Academy Press, Washington, D.
http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=10625#toc
10. Veterinary Services Report, due 2008, Johne's Disease on U.S. Dairy Farms, 1991-2007. United States Department of Agriculture.
11. Whittington, R.J., D.J. Marshall, P.J. Nichols, et al., 2004. Survival and dormancy of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in the environment. Appl Environ Microbiol 70:2989-3004.
<http://aem.asm.org/cgi/reprint/70/5/2989>
12. Collins, M.T., I.A. Gardner, F.B. Garry, A.J. Rousel, S.J. Wells. 2006. Consensus recommendations on diagnostic testing for the detection of paratuberculosis in cattle in the United States. J Am Vet Assoc 229:1912-1919.
13. USDA. 2005. Dairy 2002 Johne's disease follow-up study: Management practices and within-herd prevalence. APHIS Info Sheet, Veterinary Services. Centers for Epidemiology and Animal Health.
http://www.aphis.usda.gov/vs/ceah/ncahs/nahms/dairy/dairy02/Dairy02_Johnes_followup_study.pdf
14. Goodger, W.J., M.T. Collins, K.V. Nordlund, C. Eisele, J. Pelletier, C.B. Thomas and D.C. Sockett. 1996. Epidemiologic study of on-farm management practices associated with prevalence of Mycobacterium paratuberculosis infections in dairy cattle. J Am Vet Assoc 208, 1877-1881.
15. Corti, S. and R. Stephan. 2002. Detection of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis specific IS900 insertion sequences in bulk-tank milk samples obtained from different regions throughout Switzerland. BMC Microbiol. 2, 15.
<http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2180-2-15.pdf>
16. Clark, D.L., J.L. Anderson, J.J. Koizickowski and J.L.E. Ellingson. 2006. Detection of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis genetic components in retail cheese curds purchased in Wisconsin and Minnesota by PCR. Mol. Cel. Probes 20, 197-202.

17. Donaghy, J.A., N.L., Totton, and M.T. Rowe. 2004. Persistence of *Mycobacterium paratuberculosis* during manufacture and ripening of cheddar cheese. *Appl Environ Microbiol* 70, 4899-4905. <http://aem.asm.org/cgi/reprint/70/8/4899.pdf>
18. Jaravata, C.V., W.L. Smith, G.J. Rensen, J. Ruzante, and J.S. Cullor. 2007. Survey of ground beef for the detection of *Mycobacterium avium paratuberculosis*. *Foodborne Pathog Dis* 4, 103-106.
19. Abubakar, I., D.J. Myhill, A.R. Hart, et al. 2007. A case-control study of drinking water and dairy products in Crohn's disease-further investigation of the possible role of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *Am J Epidemiol* 165:776-783. <http://aje.oxfordjournals.org/cgi/reprint/165/7/776>
20. Pickup, R.W., G. Rhodes, T.J. Bull, S. Arnott, K. Sidi-Boumedine, M. Hurley and J. Hermon-Taylor. 2006 *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Lake Catchments, in river water abstracted for domestic use, and in effluent from domestic sewage treatment works: Diverse opportunities for environmental cycling and human exposure. *Appl Environ Microbiol* 72:4067-4077. <http://aem.asm.org/cgi/reprint/72/6/4067>
21. Chiodini, R.J. and J. Hermon-Taylor. 1993. The thermal resistance of *Mycobacterium paratuberculosis* in raw milk under conditions simulating pasteurization. *J Vet Diagn Invest* 5:629-631. <http://jvdi.org/cgi/reprint/5/4/629.pdf>
22. Donaghy, J.A., M. Linton, M.F. Patterson, and M.T. Rowe. 2007. Effect of high pressure and pasteurization on *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in milk. *Lett Appl Microbiol* 45:154-159.
23. Feller, M., K. Huwiler, R. Stephen, et al. 2007. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* and Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 7:607-613.
24. Chamberlin, W., G. Ghobrial, M. Chehtane, S.A. Naser. 2007. Successful treatment of a Crohn's disease patient infected with bacteremic *Mycobacterium paratuberculosis*. *Am J Gastroenterol*. 102:689-91.
25. Chamberlin, W. and S. A. Naser. 2007. Blood Cultures of 19 Crohn's Disease Patients. *Am J Gastroenterol*. (In press)
26. Li, L., J.P. Bannantine, Q. Zhang, A. Amosin, B.J. May, D. Alt, N. Banerji, S. Kanjilal and V. Kapur. 2005. The complete genome sequence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *PNAS* 102:12344-12349. <http://www.pnas.org/cgi/reprint/102/35/12344.pdf>
27. Dalziel, T.K. 1913. Chronic interstitial enteritis. *Br. Med. J.* 2:1068-1070. <http://www.springerlink.com/content/1094786t467v7478/fulltext.pdf>
28. Bull, T.L, E.J. McMinn, K. Sidi-Boumedine, et al. 2003. Detection and verification of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in fresh ileocolonic mucosal biopsies from individuals with and without Crohn's disease. *J Clin Micro* 41:2915-2923. <http://jcm.asm.org/cgi/reprint/41/7/2915.pdf>
29. Autschbach, F., S. Eisold, U. Hinz, et al. 2005. High prevalence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* IS900 DNA in gut tissues from individuals with Crohn's disease. *Gut* 54:944-949. <http://gut.bmj.com/cgi/content/abstract/54/7/944>
30. Selby, W., P. Pavli, B. Crotty, et al. 2007. Two-year combination antibiotic therapy with clarithromycin, rifabutin, and clofazimine for Crohn's disease. *Gastroenterol* 132:2313-2319.
31. Chiodini RJ. 1989. Crohn's disease and the mycobacterioses: a review and comparison of two disease entities. *Clin Microbiol Rev* 2: 90-117. <http://alan.kennedy.name/crohns/research/diagnos/chiodini.htm>
32. Marks, D.J., M. W. Harbord, R. MacAllister, 2006. Defective acute inflammation in Crohn's disease: a clinical investigation. *Lancet* 367:668-678. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2092405>
33. Jones, P.H., T.B. Farver, B. Beaman, et al. 2006. Crohn's disease in people exposed to clinical cases of bovine *paratuberculosis*. 2006. *Epidemiol Infect* 134:49-56.

34. Sartor, R.B. 2005. Does Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis cause Crohn's disease? Gut 54:896-898.
<http://gut.bmj.com/cgi/reprint/54/7/896>

35. Jeyanathan, M., O. Boutros-Tadros, J. Radhi, M. Semret, A. Bitton, and M.A. Behr. 2007. Visualization of Mycobacterium avium in Crohn's tissue by oil-immersion microscopy. Microb and Infect 9: 1567-1573.