

О ВОПРОСЕ ИММУНИТЕТА И СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ЛИСТЕРИОЗА

Д.Н. Хлынов, аспирант кафедры МВЭ и ВСЭ УГСХА

Д.А. Васильев, д.б.н., профессор, зав. кафедрой МВЭ и ВСЭ

С.Н. Золотухин, д.б.н., профессор кафедры МВЭ и ВСЭ

ФГОУ ВПО «Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия»

Впервые возбудителя листериоза описали в своей публикации Мюррей и др. в 1926 году. Мюрреем и др. в 1924 году были зарегистрированы шесть случаев внезапной гибели молодых кроликов в зверопитомнике Отдела патологии Кембриджского университета. В дальнейшем в течение последующих 15 месяцев имели место более многочисленные случаи. Особые проявления болезни и высокая летальность послужили началом исследования.

Работы Маканесса (G.V. MacKanness, 1962, 1971) являются основоположением об иммунитете к листериозной инфекции. В них исследователь показывает связь протективного иммунитета у мышей с сенсибилизацией лимфоцитов живыми листериями. Сыворотка полученная от этих мышей, содержащая антитела в высоких титрах к листериям, не обладала протективным эффектом.

В 1960 г стало известно, что *Listeria monocytogenes* может выживать внутри резидентных макрофагов печени и селезенки.

Детальным изучением факторов клеточного иммунитета занимался Kauffman. Листерии способны размножаться как в профессиональных, так и непрофессиональных фагоцитах (фибробластах, энтероцитах и гепатоцитах), в результате бактерии во внутриклеточном окружении защищены от большинства хозяйских механизмов защиты. Иммунитет к листериозной инфекции типичен для инфекций, вызванных внутриклеточными паразитами (микобактерии, легионеллы, лейшмании), способными размножаться в профессиональных фагоцитах, главным образом в мононуклеарных клетках (J. Hess, S.H.E. Kaufmann, 1993).

Образование механизма иммунного ответа происходит в несколько этапов. Первый этап начинается после появления инфекционного агента – образуются фагоциты и макрофаги, которые накапливаются в очаге поражения. В ходе неспецифического фагоцитоза фиксированные моноциты и макрофаги поглощают бактерии, в результате около 90% инокулюма разрушается. Компоненты комплемента могут быть вовлечены в фагоцитоз и киллинг.

Экстрацеллюлярные белки как интерналин, листериолизин O, белок полимеризации актина, фосфолипаза, металлопротеаза и возможно р60 индуцируют гуморальный ответ, тогда как клеточноассоциированные антигены его не вызывают. *Listeria monocytogenes* является внутриклеточным патогеном и не персистирует в крови в результате чего не удается стимулировать гуморальный иммунитет.

Антигенспецифической пролиферацией Т-клеток характеризуется второй этап механизма иммунного ответа. Уменьшение числа бактерий в моноцит-макрофагальной фагоцитарной системе происходит, как правило, через 3-4 дня после инфицирования. Это является свидетельством начала Т-клеточнозависимой иммунной стадии защиты, заканчивающейся приобретением длительной устойчивости. Через 5 дней инфекции наблюдается развитие приобретенной антилистериозной активности. На этой стадии быстро увеличивается количество активированных макрофагов в инфицированных тканях. Для эффективного взаимодействия Т-клетка-макрофаг, макрофаги должны подключить антиген и он должен быть экспрессирован вместе с антигенами главного комплекса гистосовместимости (ГКГС). Антиген-перезентирующие макрофаги взаимодействуют с Т-хелперами, которые имеют на своей поверхности рецептор к ГКГС. Это взаимодействие усиливается интерлейкином (ИЛ-1), монокином секретируемым ГКГС-представляющим макрофагом. В результате взаимодействия популяция активированных Т-клеток начинает продуцировать лимфокин ИЛ-2. В присутствии листериозного антигена и ИЛ-2 стимулируются и приступают к делению две субпопуляции Т-клеток: цитотоксические Т-лимфоциты; Т-клетки – продуценты медиаторов, обеспечивающих формиро-

вание устойчивости к инфекции. Эти два Т-клеточных клона продуцируют повышенные количества гамма-интерферона (γ -ИФ). Дополнительно, нормальные киллеры (НК-клетки), стимулированные (γ -ИФ), приобретают способность лизировать инфицированные фибробласты и гепатоциты.

Листерииолизин О является ключевым фактором в иммунном ответе на *Listeria monocytogenes*. У BALB/c – мышей, иммунизированных ЛЛО-секретирующими штаммами *Listeria monocytogenes*, вырабатывается специфическая резистентность, тогда как у мышей, иммунизированных ЛЛО-негативными штаммами или неживыми препаратами *Listeria monocytogenes*, протективный иммунный ответ не вырабатывается. Полагают, ЛЛО является доминантным антигеном из-за его быстрой деградируемости и очень эффективно процессинга в ГКГС I ассоциированный эпитоп.

Дифференциация CD4(+) Т-клеток в Th1- или Th2-хелперах зависит от цитокинов, индуцируемых антигенами бактерий. Ответ, который приводит к секреции γ -ИФ, лимфотоксина и ИЛ-2, классифицируется как Т-хелперный 1 (Th1), а – ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-9, ИЛ-10 и ИЛ-13, как Т-хелперный-2 (Th2).

У иммунокомпетентных животных, инфицированных *L.monocytogenes*, изменение концентрации циркулирующих γ -ИФ и β -ИФ обнаруживаются на вторые или третьи сутки. К 6 дню инфекции развивается пик иммунного ответа, который совпадает с максимумом синтеза γ -ИФ Т-клетками. С целью нейтрализации эндогенного γ -ИФ введение анти- γ -ИФ моноклональных антител за 2 дня до иммунизации мышей живыми бактериями полностью блокировало как генерацию протективных Т-клеток, так и адаптивный процесс. Неспособность убитых листерий индуцировать продукцию γ -ИФ, обуславливает неспособность их индуцировать протективный иммунитет. Если инфекцию, индуцирующую иммунитет, остановить антибиотиками, то ослабляются индукция протективного иммунитета и продукция γ -ИФ. γ -ИФ повышает экспрессию антигена ГКГС II. Было установлено, что γ -ИФ увеличивает презентацию эпитопов ЛЛО молекулами ГКГС класса I и II, а ИЛ-10 сильно ингибирует презентацию ЛЛО обоими лигандами.

В результате введения мышам ЛЛО с убитыми теплом бактериями в присутствии неполного адьюванта Фрейнда удалось индуцировать протективный иммунитет. Эксперименты по адаптивному переносу подтвердили, что защита антигенспецифична. ЛЛО плюс убитые бактерии индуцировали экспрессию γ -ИФ и ИЛ-12, а CD4(+)Т-клетки были принципиально необходимы для протективного иммунитета. Доказано, что множественное введение теплоинактивированных *Listeria monocytogenes* и ИЛ-12 формирует иммунологическую память, которая сопоставима с долговременным (больше 3 месяцев) протективным иммунитетом. Эти исследования показали, что ИЛ-12 может быть эффективным адьювантным компонентом вакцин для широкого круга патогенов животных и человека.

В 1950 году Stanley (1950) наблюдал, что липиды *L. monocytogenes* могут действовать как «адьювант» при продуцировании антител. Затем Jakoniuk и Borowski (1972) исследовали влияние теплоинактивированных *Listeria* на ответную реакцию мышей, иммунизированных овечьими эритроцитами. Как первичная, так и вторичная иммунная реакция были ускоренными, соответственно, пролиферация антителосинтезирующих клеток была усиленной и длительной. Был увеличен вес селезенки. Fylton et al. (1975) описали, как водорастворимый экстракт из разрушенных ультразвуком *Listeria* вызывал запоздалую гиперчувствительность кожи морских свинок, зараженных внутрисердечно. В то же время экстракт был митогенным для перитонеальных лимфоцитов.

Попытки разработать эффективные средства специфической профилактики листериоза предпринимались для защиты сельскохозяйственных животных. Несмотря на то, что в 60-е годы в некоторых странах (Болгария, СССР) инактивированные и живые вакцины широко применялись в сельском хозяйстве, в дальнейшем были получены убедительные данные о недостаточной эффективности этих препаратов (В.М. Котляров, И.А. Бакулов, 2001).

Препараты для специфической профилактики людей не разработаны.

Для профилактики листериоза в нашей стране необходимо наряду с традиционными ветеринарно-гигиеническими мероприятиями обеспечить эффективный эпидемиологический надзор, препятствующий распространению пищевого листериоза. Выделены наиболее важные направления профилактики ли-

стериоза:

1) Регламентирование показателя *L. monocytogenes* для сырья и продуктов животного происхождения, птицы, рыбы в качестве гигиенического требования к безопасности пищевых продуктов и внедрение его в практику текущего надзора. Критерий безопасности: наличие *Listeria monocytogenes* не допускается в 25 г продукта (48).

2) Контроль за листериями с учетом возможности их размножения при низких температурах в условиях длительного хранения; тщательный бактериологический контроль импортной пищевой продукции (продукты животного происхождения, птица, рыба, овощная продукция).

3) Комплекс мероприятий по эпизоотологическому и эпиднадзору за листериозом.

Профилактические мероприятия включают осуществление комплекса санитарно-гигиенических и ветеринарно-гигиенических мероприятий на животноводческих объектах и прилегающих к ним территориях, направленных на профилактику листериоза у животных и обслуживающего персонала, оздоровление неблагополучных хозяйств.

Общий комплекс ветеринарно-санитарных и санитарных мероприятий в животноводческих хозяйствах и прилегающих к ним населенных пунктах; снижение численности грызунов и защита от них жилых, складских и животноводческих помещений, мясокомбинатов и предприятий общественного питания, защита водных источников от грызунов в соответствии с СП 3.1.088-96 и ВП 13.4.1311-96.

Строгое соблюдение гигиенических требований к технологическому процессу переработки продуктов на молокозаводах, мясо-, птице- и рыбокомбинатах.

Библиографический список:

1. Бакулов И.А., Васильев Д.А. Листериоз как пищевая инфекция. Вопросы диагностики и профилактики, Ульяновск, 1991.
2. Бакулов И.А., Васильев Д.А. Листерии и листериоз, Ульяновск, 2008.
3. Тартаковский И.С., Малеев В.В., Ермолаева С.А., Листерии: роль в инфекционной патологии человека и лабораторная диагностика. — М.: Медицина для всех, 2002.
4. Книзе А.В., Бузун А.И. Эпизоотическая ситуация по листериозу в странах мира и России. В сб. Листериоз на рубеже тысячелетий. Покров, 1999: 118-122.
5. Котляров В.М., Бакулов И.А., Листериоз — инфекция животных и людей. В сб. Нейроинфекции: бешенство, губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота, Крейтцфельдт-Якоба и другие прионные болезни; листериоз; болезнь Ауески, болезнь Тешена. Покров, 2001; 105-112.
6. Литвин В.Ю. Емельяненко Е.Н. Пушкарева В.И. Патогенные бактерии, общие для человека и растений: проблемы и факты. Журн. микробиол. 1996; 2: 101-104.
7. Покровский В.И. Годованный Б.А. Листериоз. В кн. Инфекционные болезни. М. Медицина, 1996; 291-296.
8. Bille J. Epidemiology of human listeriosis in Europe, with special reference to the Swiss outbreak 1990. p. 71-74. In: A.J.Miller, J.L.Smith, and G.A.Somkuti (ed.), Foodborne listeriosis. Elsevier, New York, NY.
9. Broome C.V. Listeriosis: can we prevent it? 1993. ASM News. 59: 444-446.
10. MacKanness G.B. Resistance to intracellular infection. 1971. J. Infect. Dis. 123: 439-445.
11. Hahn H., & Kaufmann S.H.E. The role of cell-mediated immunity in bacterial infections. 1981. Rev. Infect. Dis. 3: 1221-1250.