

РОССИЙСКОЕ РЕСПИРАТОРНОЕ ОБЩЕСТВО
МЕЖРЕГИОНАЛЬНАЯ АССОЦИАЦИЯ ПО КЛИНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ
И АНТИМИКРОБНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ (МАКМАХ)

**ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ДИАГНОСТИКЕ
И ЛЕЧЕНИЮ ЛЕГИОНЕЛЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ,
ВЫЗЫВАЕМОЙ *Legionella pneumophila*
СЕРОГРУППЫ 1**

Пособие для врачей

Москва, 2009 г.





РОССИЙСКОЕ РЕСПИРАТОРНОЕ ОБЩЕСТВО
МЕЖРЕГИОНАЛЬНАЯ АССОЦИАЦИЯ ПО КЛИНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ
И АНТИМИКРОБНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ (МАКМАХ)

**ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ДИАГНОСТИКЕ
И ЛЕЧЕНИЮ ЛЕГИОНЕЛЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ,
ВЫЗЫВАЕМОЙ *Legionella pneumophila*
СЕРОГРУППЫ 1**

Пособие для врачей

Москва, 2009 г.

Авторский коллектив:

А.Г. Чучалин¹, А.И. Синопальников², И.С. Тартаковский³,
Т.И. Карпова³, Ю.Е. Дронина³, О.В. Садретдинова³, Р.С. Козлов⁴,
З.Д. Бобылева⁵, И.В. Лещенко⁶, Д.О. Михайлова⁷, С.А. Рачина⁴

Публикация настоящего издания осуществлена при поддержке фармацевтической компании «Sanofi-Aventis».

Представительство АО «Санофи-авентис груп» (Франция).
Адрес: 115035, Москва, ул. Садовническая, д. 82, стр. 2.
Тел.: (495) 721-1400. Факс: (495) 721-1411. www.sanofi-aventis.ru

¹ ФГУ НИИ пульмонологии Росздрава

² Государственный институт усовершенствования врачей Минобороны России

³ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН

⁴ Смоленская государственная медицинская академия

⁵ Министерство здравоохранения Свердловской области

⁶ Уральская государственная медицинская академия

⁷ Министерство здравоохранения и социального развития РФ



Введение

Первая эпидемическая вспышка легионеллеза была зарегистрирована летом 1976 года в Филадельфии (США), когда из 4400 участников конгресса ветеранской организации «Американский легион» у 221 человека (5%) развилась тяжелая пневмония, для 34 (15,4%) завершившаяся летальным исходом. Возбудитель пневмонии был выделен из легочной ткани умерших и охарактеризован спустя полгода известными американскими риккетсиологами J.E. McDade и C.C. Shepard. В память о жертвах заболевания и в стремлении подчеркнуть тропность к легочной ткани возбудитель был назван *Legionella pneumophila*, а за заболеванием прочно утвердилось название «болезнь легионеров».

Открытие этого нового бактериального агента, очевидно, не имело такого глобального медико-социального резонанса, как открытие возбудителя ВИЧ-инфекции или новых вирусных заболеваний печени. Частота выявляемых случаев болезни легионеров уступает и распространенности инфекционных болезней, вызываемых другими недавно описанными возбудителями, например *Campylobacter* spp. или *Chlamydophila pneumoniae*. Тем не менее значительный интерес к проблеме легионеллеза сохраняется во всем мире. Хотя в целом уровень заболеваемости легионеллезной инфекцией и невелик, спорадические случаи и эпидемические вспышки заболевания, сопровождающиеся летальным исходом, ежегодно выявляются в различных странах мира.

В этом контексте следует упомянуть зарегистрированную в июле – августе 2007 года масштабную вспышку легионеллезной инфекции в городе Верхняя Пышма Свердловской области, когда с симптомами инфекции нижних дыхательных путей за медицинской помощью обратились 202 человека, из которых 197 (97,5%) было госпитализировано. Из числа обратившихся за медицинской помощью легионеллезная инфекция была установлена у 74 больных, четверо из которых умерли. Из легочной ткани одного умершего пациента была выделена культура *L.pneumophila* (табл. 1).

По данным разных авторов, отдельные виды микроорганизмов рода *Legionella* оказываются причиной пневмонии в 0,6–16,2% случаев заболевания.

Российские данные о «вкладе» данного возбудителя в этиологию пневмоний в настоящее время отсутствуют. В одном из недавно завершившихся



перспективных исследований НИИ антимикробной химиотерапии (г. Смоленск) при исследовании респираторных образцов методом ПЦР у взрослых госпитализированных пациентов с внебольничной пневмонией ДНК *L.pneumophila* обнаружена в 5 из 326 случаев, что составило 1,5%.

Таблица 1. Эпидемические вспышки легионеллеза в 2003–2007 гг.

Страна	Годы	Количество заболевших, абс.	Количество умерших, абс.
Франция	2003–2004	86	17
Швеция	2004	32	3
Норвегия	2005	55	10
Испания	2006	122	6
Россия	2007	202	4

Характеристика возбудителя легионеллеза

Возбудители легионеллеза представляют самостоятельный род и семейство микроорганизмов. Род *Legionella* образует генетически родственную таксономическую структуру, а семейство *Legionellaceae* состоит только из одного рода и принадлежит к g-подтипу протеобактерий.

В настоящее время известно более 50 видов легионелл. Более 90% случаев болезни ассоциированы с видом *L.pneumophila*. Среди других видов легионелл чаще всего заболевание вызывают (как правило, при нарушениях клеточного иммунитета, на коморбидном фоне и в случае нозокомиального инфицирования) такие виды, как *L.micdadei*, *L.longbeuchae*, *L.dumoffii* и *L.bozemanii*.

Легионеллы представляют собой грамотрицательные палочки диаметром 0,5–0,7 мкм и длиной 2–5 мкм. В ряде случаев встречаются нитевидные формы длиной до 20–25 мкм. Не образуют эндоспор, микроцист и капсул, растут в аэробных условиях, подвижны за счет одного, двух или большего числа жгутиков. Микроорганизмы не ферментируют углеводы, разжижают желатин, не образуют уреазу, не восстанавливают нитраты, не растут на обычных питательных средах, что связано с потребностью возбудителя в L-цистеине и в растворимом пирофосфате железа.



Легионеллы являются сапрофитами и широко распространены в природе. Обитают в пресноводных водоемах, где они паразитируют в водных амебах и других простейших. Размножение легионелл активно идет в теплой воде в диапазоне температур 20–45 °С, хотя их выделяют и из холодной воды. Условия для выживания легионелл в искусственных сооружениях более благоприятны, чем в естественных, что приводит к накоплению в них возбудителя в высоких концентрациях. Легионеллы активно колонизируют синтетические и резиновые поверхности водопроводного, промышленного, медицинского оборудования с образованием так называемых биопленок, в которых они значительно более устойчивы к действию дезинфицирующих веществ по сравнению с планктонными формами. При колонизации легионеллами искусственных водных систем, к которым относятся системы горячего и холодного водоснабжения, централизованные системы кондиционирования воздуха с водным охлаждением, градирни, вихревые бассейны и джакузи массового пользования в аквапарках и спортивно-восстановительных центрах, увлажнители воздуха, фонтаны и т. д., концентрация легионелл значительно возрастает, что представляет эпидемическую опасность.

Легионеллы являются факультативными внутриклеточными паразитами. В организме человека они размножаются преимущественно в альвеолярных макрофагах, полиморфно-ядерных нейтрофилах и моноцитах крови.

Особенности клинического течения легионеллеза

В клинической картине заболевания отсутствуют патогномичные симптомы. Подозрение на легионеллезную этиологию инфекции возникает в случаях тяжелого течения внебольничной пневмонии при наличии следующих факторов риска: теплое время года; возраст старше 40 лет; мужской пол; путешествие (отдых, командировка) внутри страны или за рубеж, совпадающее со сроком инкубационного периода (от 2 до 10 дней до начала заболевания); курение; злоупотребление алкоголем; наличие сопутствующих заболеваний, в первую очередь таких, как сахарный диабет, сердечно-сосудистые заболевания, заболевания, сопровождаемые курсом системной гормональной или (и) интенсивной иммуносупрессивной терапии.



Клинические проявления инфекционного процесса при легионеллезе характеризуются широким спектром – от субклинических, практически бессимптомных или нетяжелых скоротечных заболеваний по типу острых респираторных инфекций до тяжелых состояний с поражением многих органов, но чаще всего проявляющихся пневмонией. Поскольку эпидемиологические данные и клиническое течение болезни в период вспышек и при спорадической заболеваемости существенно различаются, выделяют следующие клинические формы легионеллеза: острый респираторный легионеллез – лихорадка Понтиак; легионеллезную пневмонию, или собственно болезнь легионеров согласно Международной классификации болезней, травм и причин смерти X пересмотра (1992 г.); спорадический легионеллез и нозокомиальный (внутригоспитальный, внутрибольничный) легионеллез. Легионеллез, ассоциированный с путешествиями (travel-associated legionellosis), может протекать как в форме болезни легионеров, так и в виде лихорадки Понтиак.

Лихорадка Понтиак

По клиническим проявлениям эта форма легионеллеза неотличима от острых респираторных вирусных инфекций. Инкубационный период в среднем составляет 36 часов и может колебаться от 6 до 66 часов. Заболевание начинается с прогрессирующего недомогания, диффузных мышечных болей. Температура тела повышается до 38–40 °С, сопровождается ознобом и головной болью. Уже в первые сутки появляется сухой кашель, ощущение сухости и боль в горле. Многие больные жалуются на чувство стеснения и боль за грудиной. У 20–50% больных возникают неврологические симптомы: головокружение, светобоязнь, нарушение сознания различной степени, нарушение координации, бессонница. Большинство больных отмечают нарушения памяти и способности сосредоточиться. Возможна боль в животе и рвота. При исследовании периферической крови выявляется умеренный лейкоцитоз – $9-18 \cdot 10^9$ /л. Болезнь, как правило, протекает без осложнений. Лихорадочный период длится от 2 до 5 дней. В периоде реконвалесценции многие больные жалуются на быструю утомляемость, снижение памяти и способности сосредоточиться, потливость, плохой сон. У 10–15% больных возможен рецидив болезни с менее характерной симптоматикой.



Легионеллезная пневмония (болезнь легионеров)

Инкубационный период болезни легионеров составляет обычно 2–10 дней, однако на фоне иммунологических нарушений он может быть более продолжительным – до трех недель. В коротком продромальном периоде отмечается повышенная утомляемость, анорексия, умеренная головная боль.

Симптомы поражения верхних дыхательных путей, как правило, отсутствуют. В этом периоде нередко больных беспокоит преходящая диарея. В дальнейшем состояние больных резко ухудшается, температура тела в течение нескольких часов достигает 40 °С, сопровождается ознобом, сильными головными болями, нарастающей адинамией, миалгией, иногда полиартралгией. Уже в первый день болезни появляется сухой непродуктивный кашель с последующим отделением скудной слизистой (реже – слизисто-гнойной) мокроты, изредка возможно кровохарканье. Характерны жалобы на колющие интенсивные боли в груди, усиливающиеся при кашле и глубоком дыхании, которые связываются с развитием фибринозного плеврита. Одышка является одним из патогномоничных и ранних симптомов и прогрессирует при неадекватном лечении, частота дыхания достигает 40–50 в минуту. Нарастающая острая дыхательная недостаточность диагностируется у 20–30% больных и требует респираторной поддержки. В ряде случаев развивается инфекционно-токсический шок.

При обследовании выявляется бронхиальное дыхание, крепитация, усиленная бронхофония, локальные мелко- и среднепузырчатые хрипы; при долевого поражениях и плевральном выпоте – укорочение перкуторного звука.

Внелегочная симптоматика, обусловленная главным образом интоксикацией, нередко доминирует в клинической картине. У 25% больных в начальном периоде болезни наблюдается поражение желудочно-кишечного тракта – их беспокоит тошнота, рвота, боли в животе, диарея. Гепатомегалия является одним из характерных признаков болезни легионеров. В тяжелых случаях определяется симптоматика токсической энцефалопатии: нарушение сознания, дезориентация в месте и времени, дизартрия, возможны судороги, мозжечковые нарушения, имеются сообщения о развитии менингоэнцефалита. Почки при легионеллезе поражаются вторично, острая почечная недостаточность является следствием инфекционно-токсического шока.



При рентгенографии грудной клетки визуализируются одно- или двусторонние очаговые инфильтраты, которые в последующие 2–3 суток консолидируются и распространяются с вовлечением новых сегментов. Ограниченный плевральный выпот определяется практически у каждого второго больного. Обращает на себя внимание длительное разрешение легочных и плевральных изменений, значительно отстающее от сроков клинического выздоровления.

При лабораторном исследовании крови выявляется умеренный, иногда выраженный лейкоцитоз с относительной и абсолютной лимфопенией, ускорение СОЭ (нередко до 60–80 мм/ч). Характерна диспротеинемия с уменьшенным содержанием альбуминов, увеличением уровня С-реактивного белка, гипонатриемия, гипофосфатемия. Более чем у трети больных увеличивается активность аминотрансфераз, щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы, у 15% регистрируется билирубинемия. В тяжелых случаях отмечается нарастающая гипоксемия, насыщение крови кислородом становится менее 90%, повышается уровень креатинина и азота мочевины в крови, возможно развитие ДВС-синдрома.

Лихорадочный период обычно продолжается 10–15 дней и при благоприятном течении отмечается медленное выздоровление с длительным сохранением астенических симптомов. В тяжелых случаях больные погибают от нарастающей дыхательной недостаточности, развития респираторного дистресс-синдрома, а в условиях продолжительной реанимации – полиорганной недостаточности. Летальность в различных вспышках колеблется от 8 до 40% и определяется своевременностью диагностики, сроками назначения этиотропной терапии и ее эффективностью.

Поражение легких при болезни легионеров иногда протекает в виде острого альвеолита. Заболевание в этих случаях характеризуется острым началом, лихорадкой, головной болью, астенией, сухим кашлем с последующим нарастанием одышки. При аускультации легких определяется распространенная двусторонняя грубая крепитация, напоминающая влажные хрипы. Крепитация имеет свои акустические особенности и сохраняется длительно, что позволяет отличить ее от типичной крепитации при острых бактериальных и вирусных пневмониях.



Антибактериальная терапия болезни легионеров

В настоящее время имеются многочисленные доказательства того, что поздняя диагностика болезни легионеров и, как следствие этого, позднее начало антибактериальной терапии сопровождается увеличением числа летальных исходов. Напротив, растущая осведомленность практикующих врачей об особенностях клинического течения и подходах к этиотропному лечению легионеллезной инфекции, включение в стандарты антимикробной химиотерапии внебольничной пневмонии антибиотиков, активных в отношении легионелл – макролидов, фторхинолонов, популяризация и все более широкое использование экспресс-методов определения растворимого антигена *L.pneumophila* серогруппы 1 в моче привели в последние годы к ощутимому снижению летальности при этом заболевании. Так, в частности, согласно данным масштабного ретроспективного эпидемиологического исследования, проведенного сотрудниками центров по контролю и профилактике заболеваний (CDC, США), в период с 1980 по 1998 год летальность при болезни легионеров снизилась с 26 до 10%. Еще более демонстративными представляются результаты исследований последних лет, свидетельствующие о том, что в случаях активного использования доступных методов экспресс-диагностики *L.pneumophila*-инфекции летальность снижается до 0–5,5%.

Поскольку исход болезни легионеров непосредственно зависит от сроков назначения адекватной антимикробной химиотерапии, пациентам, особенно с тяжелой легочной недостаточностью, сопутствующими заболеваниями, сопровождающимися иммунодефицитом, антибиотики должны назначаться как можно раньше. Являясь внутриклеточным паразитом, легионеллы оказываются нечувствительными ко всем антибиотикам, способным накапливаться исключительно или главным образом в интерстициальном пространстве. Поэтому для лечения болезни легионеров необходимо использовать препараты, хорошо проникающие через биологические мембраны и характеризующиеся высокой внутриклеточной аккумуляцией, – макролиды и фторхинолоны.

На протяжении многих лет эритромицин оставался препаратом выбора при лечении легионеллезной инфекции. Тем не менее анализ отдаленных



последствий лечения высокими дозами этого антибиотика, а также наличие выраженных нежелательных реакций привели клиницистов к необходимости поиска альтернативы. И такая альтернатива была найдена в «лице» современных макролидов и фторхинолонов.

Современные макролиды (кларитромицин, азитромицин), так же как и эритромицин, обладают высокой активностью против *L. pneumophila*, а азитромицин помимо этого демонстрирует значимые постантибиотический и суб-МПК-эффекты в отношении данного возбудителя. Стоит отметить, что более высокая, по сравнению с кларитромицином, МПК¹ азитромицина нивелируется высокой внутриклеточной концентрацией последнего.

Более высокой антилегионеллезной активностью обладают новые или «респираторные» фторхинолоны (табл. 2).

Таблица 2. Сравнительная активность антибактериальных препаратов *in vitro* в отношении *L.pneumophila*

Антибиотик	<i>L. pneumophila</i>
	МПК ₉₀ , мкг/мл
Левифлоксацин (Таваник®)	0,008–0,016
Моксифлоксацин	0,008–0,030
Гемифлоксацин	0,016–0,030
Ципрофлоксацин	0,016–0,060
Азитромицин	1,200
Кларитромицин	0,220
Эритромицин	0,460

Прогнозируемое преимущество респираторных фторхинолонов было продемонстрировано в ряде клинических исследований (табл. 3). Так, в частности, применение левифлоксацина (Таваника®) по сравнению с эритромицином и кларитромицином характеризовалось скорейшим достижением стойкой апирексии, меньшей длительностью пребывания пациентов в стационаре, и, как следствие этого, большей фармакоэкономической привлекательностью. Весьма важно то, что лечение фторхинолонами (левифлоксацин

¹ Минимальная подавляющая концентрация.



(Таваник®), офлоксацин) корреспондировало с более низкой летальностью по сравнению с макролидами. Имеются и свидетельства того, что фторхинолоны оказываются более эффективными при лечении тяжелых форм легионеллезной пневмонии у пациентов с иммунодефицитными состояниями.

Таблица 3. Клиническая эффективность левофлоксацина (Таваника®) / офлоксацина в лечении легионеллезной пневмонии

	Число больных		Время до-стижения апирекси, часы		Длительность госпитализации, дни		Летальность, %		НЯ, %		Примечание
	М	Ф	М	Ф	М	Ф	М	Ф	М	Ф	
Sabria et al., 2005	76	54	77	48	9,9	7,6	7,8	5,5	-	-	Эритромицин vs. левофлоксацин (Таваник®), офлоксацин
Mykietiuk et al., 2005	80	40	108	48	10	8	5	2,5	30	20	Эритромицин и кларитромицин vs. левофлоксацин (Таваник®)
Blazquez et al., 2005	65	143	108	104	7,2	4,4	0	0,6	15,3	10,4	Кларитромицин vs. левофлоксацин (Таваник®)
Итого	221	237	97,7	66,6	9,03	6,6	4,5	2,1	23,4	12,5	

Адаптировано из: Sabria` M, Pedro-Botet ML, Go.mez J et al. For the Legionnaires' disease therapy group. Fluoroquinolones versus macrolides in the treatment of Legionnaire's disease. Chest 2005; 128: 1401–1405; Mykietiuk A, Carratala` J, Fernandez-Sabe. N et al. Clinical outcomes for hospitalized patients with Legionella pneumonia in the antigenuria era: the influence of levofloxacin therapy. Clin Infect Dis 2005; 40: 794–799; Blazquez-Garrido RM, Espinosa Parra FJ, Aleman, France.s L. et al. Antimicrobial chemotherapy for Legionnaire's disease: levofloxacin versus macrolides. Clin Infect Dis 2005; 40: 800–806.

Примечание: М – макролиды (эритромицин, кларитромицин); Ф – фторхинолоны (офлоксацин, левофлоксацин (Таваник®)); НЯ – нежелательные явления.

В этой связи, по мнению большинства авторов, при тяжелом течении болезни легионеров предпочтение следует отдавать респираторным фторхинолонам (левофлоксацин (Таваник®), моксифлоксацин и др.), а азитромицин и классические фторхинолоны (ципрофлоксацин) рассматривать как препараты второго ряда.

Выбор пути введения антибиотика зависит от тяжести состояния больного: при нетяжелом течении заболевания рекомендуется пероральный прием антибиотиков, при тяжелом состоянии пациенту необходимо вводить препараты внутривенно. Следует также учитывать, что для болезни легионеров ха-



рактерна дисфункция желудочно-кишечного тракта, что в значительной мере может повлиять на биодоступность антибиотика при его приеме внутрь.

В своем большинстве для достижения положительного результата достаточно монотерапии, а комбинированное лечение¹ резервируется для лечения отдельных случаев тяжелого течения заболевания, рефрактерного к стандартной терапии.

Стандартные схемы antimicrobial химиотерапии болезни легионеров представлены в табл. 4.

Таблица 4. Рекомендуемые режимы антибактериальной терапии легионеллезной пневмонии

Антибиотик	Дозировка
<i>Макролиды</i>	
Эритромицин	500 мг каждые 6 часов перорально 500–1000 мг каждые 6 часов внутривенно ¹
Азитромицин	500 мг каждые 24 часа ²
Кларитромицин	500 мг каждые 12 часов ²
<i>Тетрациклины</i>	
Доксициклин	100 мг каждые 12 ч или 200 мг каждые 24 часа ²
Тетрациклин	500 мг каждые 6 часов
<i>Фторхинолоны</i>	
Левифлоксацин ³ (Таваник®)	500 мг каждые 24 часа ²
Моксифлоксацин ³	400 мг каждые 24 часа ²
Ципрофлоксацин	500–750 мг каждые 12 часов внутрь 400 мг внутривенно каждые 8-12 часов ⁴
<i>Другие препараты</i>	
Рифампицин	600 мг каждые 12 часов ²

Примечание:

- ¹ Предпочтительнее назначение азитромицина или кларитромицина; в дозе 2 г в сутки может вызывать ототоксический эффект, устранимый при отмене препарата или снижении его дозы.
- ² Внутривенно или перорально.
- ³ Рекомендуются в особо тяжелых случаях, преимущественно у пациентов с выраженным иммунодефицитом.
- ⁴ Дозировка может быть повышена до 400 мг каждые 8 часов у пациентов, находящихся на искусственной вентиляции легких.

¹ Ципрофлоксацин + эритромицин; ципрофлоксацин + кларитромицин; эритромицин + рифампицин; ципрофлоксацин + кларитромицин + рифампицин.



Клиническое улучшение на фоне лечения обычно наступает на 3–5 сутки. На этом этапе парентеральное введение может быть заменено на прием антибиотика внутрь (ступенчатая терапия). У пациентов без выраженных иммунологических нарушений при нетяжелом течении пневмонии продолжительность применения антибиотиков обычно составляет 10–14 дней. При нетяжелом течении основные симптомы заболевания отчетливо регрессируют на фоне 5-дневной антибактериальной терапии. У пациентов же с серьезными сопутствующими заболеваниями, выраженным иммунодефицитом или тяжелой формой пневмонии для профилактики рецидива легионеллезной инфекции необходимо назначение 3-недельного курса лечения. Динамика изменений на рентгенограмме не должна учитываться при оценке эффективности терапии, поскольку разрешение рентгенологических изменений в легких «отстает» от клинического выздоровления.

Лабораторная диагностика

В связи со сходством клинических проявлений и симптоматики легионеллезной и пневмококковой пневмонии быстрая и эффективная лабораторная диагностика приобретает решающее значение для выбора тактики этиотропной терапии больных. В 1999 и 2002 годах экспертами ВОЗ и Европейской рабочей группой по легионеллезу соответственно в качестве диагностических критериев приняты стандарты, согласно которым диагноз «легионеллез» в случае острой инфекции нижних дыхательных путей (клинически и рентгенологически подтвержденной) считается установленным:

- 1) при выделении культуры легионелл из отделяемого респираторного тракта или легочной ткани;
- 2) при 4-кратном или более нарастании титра специфических антител к *L. pneumophila* серогруппы 1 в реакции непрямой иммунофлюоресценции;
- 3) при определении растворимого антигена *L. pneumophila* серогруппы 1 в моче иммуноферментным или иммунохроматографическим методом.

При отсутствии сыворотки крови, взятой в ранние сроки болезни, выявление достоверно высокого уровня антител к *L. pneumophila* серогруппы 1 ($\geq 1:128$) в одиночной сыворотке методом непрямой иммунофлюоресценции



позволяет считать диагноз «легионеллез» предположительно установленным. Аналогичным образом интерпретируются результаты, полученные на основании выявления антигенов возбудителя или его ДНК в респираторном секрете или легочной ткани с помощью прямой иммунофлюоресценции или ПЦР.

Пп. 2 и 3 стандартов лабораторной диагностики в настоящее время распространяются только на *L.pneumophila* серогруппы 1. Для других серогрупп *L.pneumophila* результаты, получаемые по определению антител или выявлению антигена в моче, позволяют установить лишь предполагаемый диагноз. Выделение культуры возбудителя остается единственным методом, устанавливающим окончательный диагноз в случае инфекции, вызываемой другими серогруппами *L.pneumophila* или видами *Legionella* spp. В то же время следует отметить, что более 80% спорадических и групповых случаев легионеллеза вызваны штаммами *L.pneumophila* серогруппы 1, а при эпидемических вспышках внебольничных пневмоний этиологическое значение штаммов *L.pneumophila* серогруппы 1 подтверждено в 96% случаев. Основным методом, позволяющим осуществлять в настоящее время своевременную диагностику и мониторинг легионеллезной инфекции, является определение легионеллезного антигена в моче иммунохроматографическим или иммуноферментным методом. Метод позволяет окончательно подтвердить диагноз в течение 1–2 часов. Превосходство данного метода над другими, включенными в стандарт, состоит прежде всего, в сроках исследования и доступности клинического материала.

Бактериологический метод занимает не менее 4–5 суток, причем для получения клинического материала требуются инвазивные процедуры (бронхоскопия, биопсия), так как из мокроты, особенно после начала этиотропной терапии, возбудитель удается выделить далеко не всегда. Выявление диагностического нарастания титра антител в реакции непрямой иммунофлюоресценции возможно лишь на 3-й неделе заболевания, когда проведен курс антибиотикотерапии и исход заболевания обычно ясен. Необходимость исследования парных сывороток определяет ретроспективный характер диагностики легионеллеза данным методом.

Нозокомиальный (внутрибольничный) легионеллез может быть вызван не только возбудителем болезни легионеров – *L.pneumophila*, но и другими оппортунистическими видами легионелл, прежде всего *L.micdadei*, *L.bozemanii*,



L.dumoffii, *L.longbeachae*. В этой связи при данной форме заболевания основным методом диагностики становится бактериологический, поскольку метод определения антигена в моче стандартизован только для *L.pneumophila* серогруппы 1. Для нозокомиального легионеллеза помимо типичной клинической симптоматики характерны внелегочные проявления, в связи с чем возбудитель может быть выделен не только из отделяемого респираторного тракта, но и из крови.

Диагностика легионеллезной инфекции иммунохроматографическим методом

Метод выявления антигена легионелл в клиническом материале является иммунохроматографическим тестом. Он используется для быстрого и достоверного подтверждения диагноза легионеллезной инфекции, вызванной *L.pneumophila* серогруппы 1. Растворимый антиген выявляется в моче больных начиная с 3-го дня болезни и может быть обнаружен в течение нескольких последующих месяцев (до 1 года).

Метод основан на взаимодействии кроличьих антител к *L.pneumophila* серогруппы 1, нанесенных на нитроцеллюлозную мембрану с растворимым антигеном возбудителя, выявляемым в достаточно высокой концентрации во время заболевания в моче больного. Кроличьи антитела связаны с красителем, обеспечивающим визуализацию реакции в течение 15–30 минут после нанесения образцов мочи на нитроцеллюлозную мембрану.

Метод входит в международный стандарт (стандарт ВОЗ) диагностики легионеллеза и является базовым. В настоящее время в более чем 90% случаев окончательный диагноз внебольничной легионеллезной инфекции в мире устанавливается данным методом. Положительные результаты могут быть дополнены с помощью бактериологического или серологических методов.

Указанный тест используется только для исследования образцов мочи. Для других образцов (сыворотка крови, другие биологические жидкости), которые могут содержать антиген легионелл, достоверность метода не установлена. Метод в данной модификации также не может быть использован для исследования образцов окружающей среды.



Техническое оснащение

Техническое оснащение для диагностики легионеллеза иммунохроматографическим методом включает:

- 1) набор реагентов для диагностики легионеллезной инфекции «Бинакс» (США)¹. Для диагностики могут быть использованы и другие стандартные отечественные и зарубежные наборы, зарегистрированные в установленном порядке в Российской Федерации:
 - тест-кассеты, содержащие мембрану с нанесенными иммобилизованными в виде отдельных полосок кроличьими антителами к антигену *L.pneumophila* серогруппы 1 и козьими антителами против IgG кролика в комбинации с конъюгатом, содержащим кроличьи антитела к антигену *L.pneumophila* серогруппы 1, конъюгированные с окрашенными частицами;
 - реагент А – на основе цитратно-фосфатного буфера с твином-20 и азидом натрия;
 - тампоны на палочке для отбора образца мочи пациента;
 - положительный контрольный тампон, содержащий термоинактивированные *L.pneumophila*, высушенные на тампоне;
 - отрицательный контрольный тампон, не содержащий *L.pneumophila*.
- 2) часы или таймер;
- 3) стандартный пластиковый контейнер для забора образцов мочи.

Отбор, хранение и транспортировка материала для исследования

Образцы мочи для исследования помещают в стандартные пластиковые контейнеры и хранятся при комнатной температуре (15–30 °С) не более 24 часов после получения перед постановкой реакции. В случае необходимости образцы могут храниться при температуре 2–8 °С до 14 дней или при –20 °С в течение длительного времени для первичного или повторного исследования. В качестве консерванта может быть использована борная кислота.

¹ Регистрационное удостоверение Росздравнадзора выдано НИАРМЕДИК ПЛЮС 19.06.2008, № ФСЗ 2008/02110.



Образцы мочи можно пересылать в герметично упакованных контейнерах при температуре 2–8 °С или замороженными. Перед постановкой реакции с использованием быстрых тестов для выявления антигена легионелл в моче охлажденные или замороженные образцы мочи оставляют в лаборатории до достижения комнатной температуры.

Проведение исследования

Для проведения теста тампон на палочке погружают в образец исследуемой мочи, вынимают и помещают в тест-устройство. Затем добавляют реагент А из прилагающейся пластиковой капельницы. Устройство закрывают, с тем чтобы привести исследуемый образец в контакт с тест-полоской.

Результаты учитываются спустя 15 минут и интерпретируются по наличию или отсутствию визуально различимых окрашенных линий от розового до пурпурного цвета (приложение).

Положительный результат включает выявление двух окрашенных линий в зоне чтения результата тестирования пациента, так и контрольной линии, в то время как отрицательный результат дает только одну окрашенную контрольную линию. Отсутствие окрашенной контрольной линии вне зависимости от наличия или отсутствия окрашенной линии в зоне чтения результата пациента свидетельствует о недействительности теста.

Контроль качества постановки реакции

Положительный контроль

Проявление окрашенной линии от розового до пурпурного цвета в зоне контрольной линии может рассматриваться в качестве внутреннего контроля надлежащей постановки (проведения) теста. В случае наличия капиллярного потока эта линия всегда проявляется на полоске.

Отрицательный контроль

Исчезновение фоновой окраски конъюгата в зоне чтения результата анализа пациента предоставляет возможность осуществления отрицательного контроля процедуры постановки теста. Цвет фона в зоне чтения результата



теста должен стать от слабо розового до белого в течение 15 минут после постановки и не должен мешать чтению результата теста.

Интерпретация результатов

Отрицательный результат

Негативный (отрицательный) образец дает одну окрашенную линию от розового до пурпурного цвета. Эта контрольная окрашенная линия расположена в верхней половине окна чтения результата, указывая на предположительно отрицательный результат. Наличие этой контрольной линии свидетельствует о том, что процедура постановки теста прошла корректно (правильно), но антиген *L.pneumophila* серогруппы 1 не был обнаружен.



Положительный результат

Положительный образец дает две окрашенные линии от розового до пурпурного цвета. Это значит, что антиген был выявлен. Исследуемые образцы с низкими уровнями антигена могут давать слабо окрашенную линию в области чтения результата образца. Любая видимая линия в этой зоне свидетельствует о положительном результате теста.



Недействительный результат

В случае отсутствия видимых линий или при наличии одной видимой линии в зоне чтения результата образца результат теста считается недействительным.





Обработка результатов

Рекомендуемое заключение по результату

Положительный результат на наличие антигена *L.pneumophila* серогруппы 1 в моче позволяет сделать вывод о наличии текущей или недавно перенесенной инфекции, вызванной данным возбудителем.

Отрицательный результат на наличие антигена *L.pneumophila* серогруппы 1 в моче позволяет сделать вывод об отсутствии недавней или текущей инфекции, вызванной *L.pneumophila* серогруппы 1.

Отрицательный результат теста не исключает возможность инфекции, вызванной другими серогруппами *L.pneumophila* или другими видами *Legionella* spp. Хотя практически все крупные эпидемические вспышки внебольничных пневмоний легионеллезной этиологии и около 90% спорадических случаев легионеллеза вызваны *L.pneumophila* серогруппы 1, при отрицательных результатах теста следует применить бактериологический метод или ПЦР для исследования отделяемого респираторного тракта (мокроты или инвазивных образцов, полученных при бронхоскопии или биопсии). При нозокомиальном (внутрибольничном) легионеллезе вероятность этиологической роли других серогрупп *L.pneumophila* и других видов *Legionella* spp. повышается.

Использование иммунохроматографического метода диагностики инфекции, вызываемой *L.pneumophila* серогруппы 1, целесообразно в следующих клинических ситуациях:

- при тяжелом течении внебольничной пневмонии;
- при наличии известных клинических и эпидемиологических факторов риска легионеллезной инфекции;
- при прогрессирующем течении внебольничной пневмонии, несмотря на адекватный выбор β -лактамов антибиотиков.



Рекомендуемая литература

1. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Страчунский Л.С. и др. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2006; 8(1): 54–86.
2. Синопальников А.И., Чикина С.Ю., Чучалин А.Г. Внебольничная пневмония у взрослых: современные подходы к диагностике, антибактериальной терапии и профилактике (по материалам согласительных рекомендаций Американского общества инфекционистов / Американского торакального общества, 2007) // Пульмонология. 2008; 5: 15–50.
3. Воронина О.Л., Кунда М.С., Лунин В.Г., Карпова Т.И., Тартаковский И.С. Молекулярно-генетическое типирование штаммов *Legionella pneumophila* и *Legionella* spp., выделенных на территории Российской Федерации // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2008; 10 (2): 113-121.
4. Тартаковский И.С., Гинцбург А.Л., Михайлова Д.О. и др. Применение стандартов лабораторной диагностики легионеллеза во время эпидемической вспышки пневмоний в городе Верхняя Пышма Свердловской области // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2007; 9(4): 361–368.
5. Тартаковский И.С., Синопальников А.И. Легионеллез: роль в инфекционной патологии человека // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2001; 3(1): 4–16.
6. Методические указания МУ 3.1.2.2412–08 «Эпидемиологический надзор за легионеллезной инфекцией».
7. European Guidelines for Control and Prevention of Travel Associated Legionnaires' Disease, 2005 / www.ewgli.org/
8. Legionella and the prevention of Legionellosis. – WHO guidelines, 2007 / www.who.int/

