

# ЛЕГИОНЕЛЛЕЗ

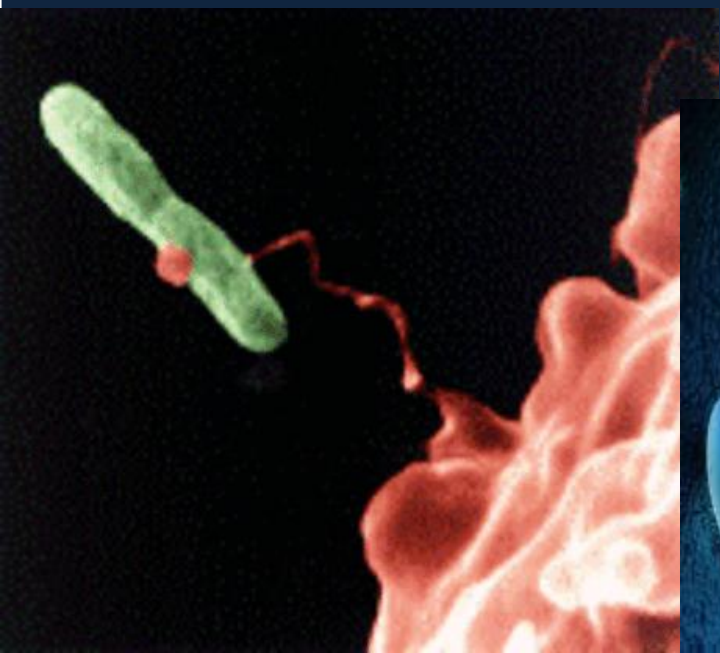
(эпидемиология, микробиология, диагностика, лечение)



2020

*К.М.Н., ст.н.с.  
И.Ю.Борздова*

Легионеллёз («болезнь легионеров»,  
питтсбургская пневмония, понтиакская  
лихорадка, легионелла-инфекция,  
лихорадка форта Брэгг) — сапронозное  
острое инфекционное заболевание,  
обусловленное различными видами  
микроорганизмов, относящихся к роду  
**Legionella.**





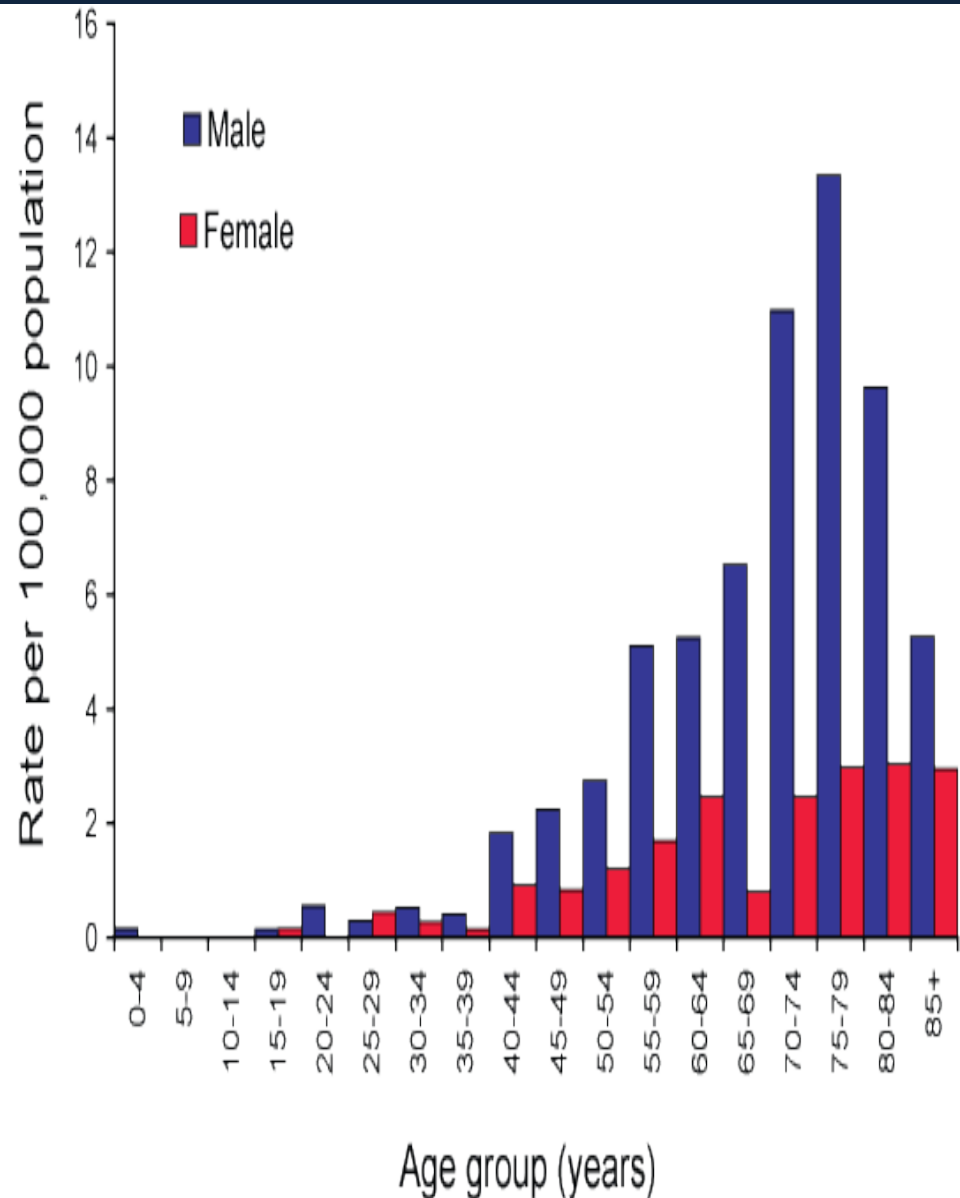
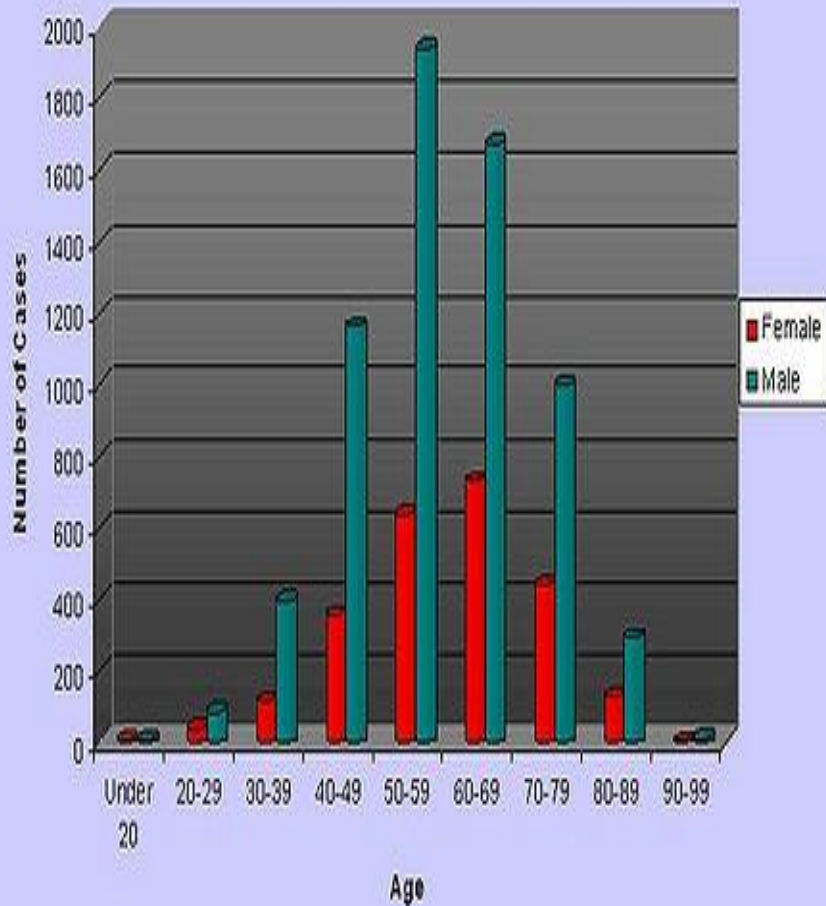
**Первая широкомасштабная эпидемическая вспышка легионеллёза, произошла на съезде «Американского легиона», 1976 г.**  
**221 участник (5 %) - тяжелая пневмония**  
**34 человека (15,4 %) - умерло**



**Впервые  
грамотрицательная  
палочка, отнесённая к  
роду Legionella была  
выделена Дж. Мак-  
Дейдом и С. Шепардом  
в 1977 году, через полгода  
после описанной  
вспышки. Бактерия была  
высеяна с фрагмента  
лёгкого погибшего от  
легионеллёза человека.**

# ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ЛЕГГИОНЕЛЛЕЗОМ

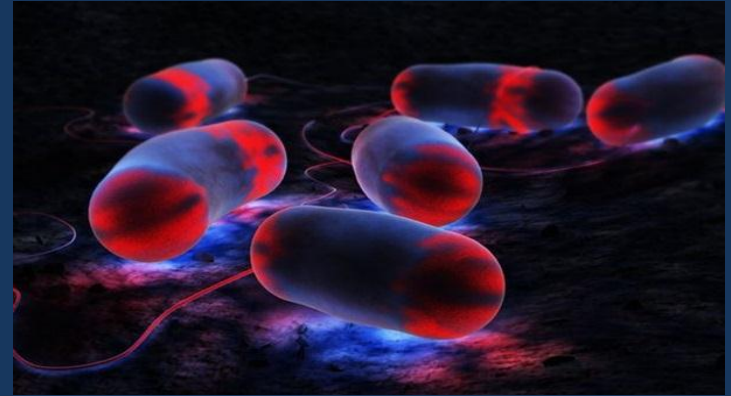
Cases of Legionnaires' Disease by Age and Gender



# Классификация легионеллезов

## Клиническая классификация:

- **Болезнь легионеров,**
- **Понтиакская лихорадка,**
- **Лихорадка форта Брэгг,**
- **Внутрибольничная болезнь легионеров**

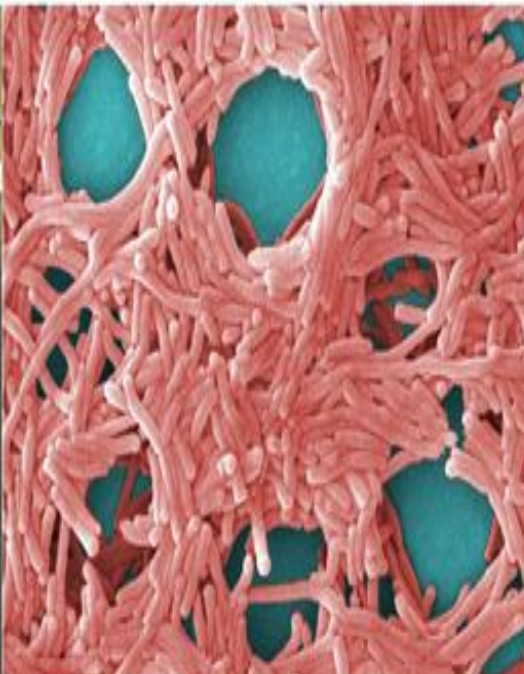


## Бактериологическая классификация: серотипирование возбудителя.

**В настоящее время классификация по серогруппам в клинике не используется.**

## Эпидемиологическая классификация:

- Внутрибольничные (15-20% ) и внебольничные формы (нозокомиальный легионеллез)- 20-25%
- формы, связанные с миграциями (миграционные или «легионеллёз путешественников»)- 30-40%
- легионеллёзы неясной формы -10-15%





**Частота заболеваемости  
легионеллёзом у путешественников  
несколько выше, чем у людей, не  
меняющих своего местонахождения.**



**В США среди всех  
заболевших легионеллёзом в  
2012-2014 гг. 23-25 %  
пришлось на долю  
путешественников.**





Легионеллёз — инфекционная патология,  
индуцированная внедрением в организм  
микроорганизмов рода Legionella.

ПРОТЕОБАКТЕРИИ

g-подтип протеобактерий

Семейство: Legionellaceae

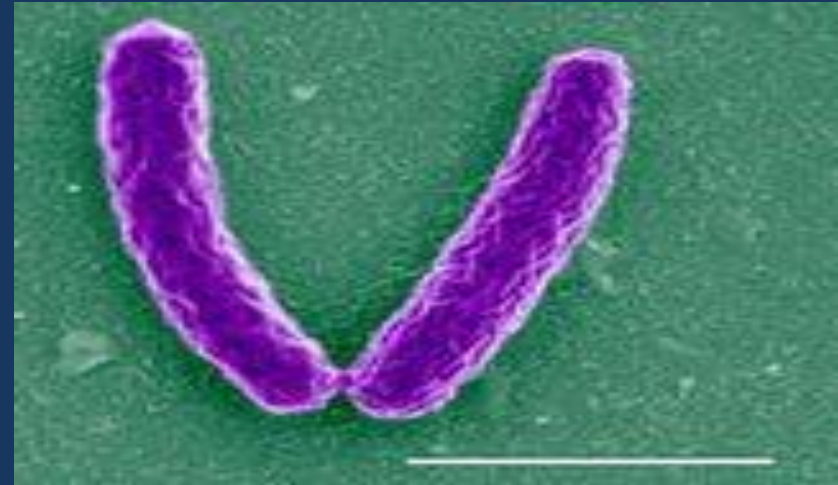
Род: Legionella

Виды: L.pneumophila,

L. micdadei,

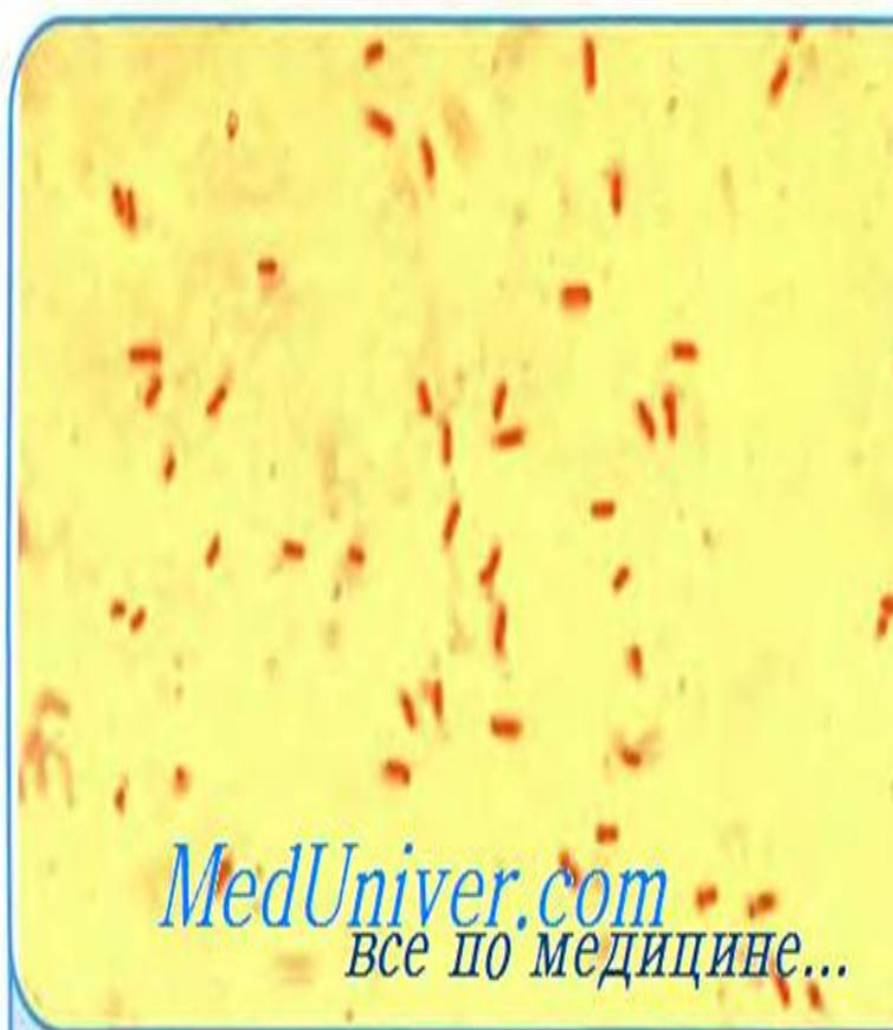
L.longbeuchae,

L.dumoffii и L.bozemanii

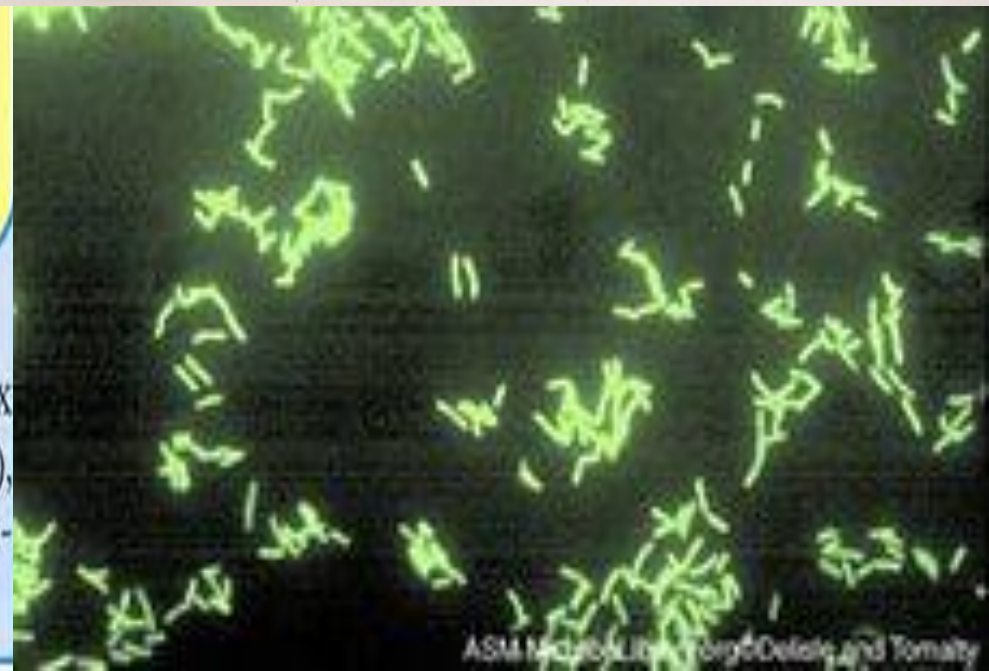
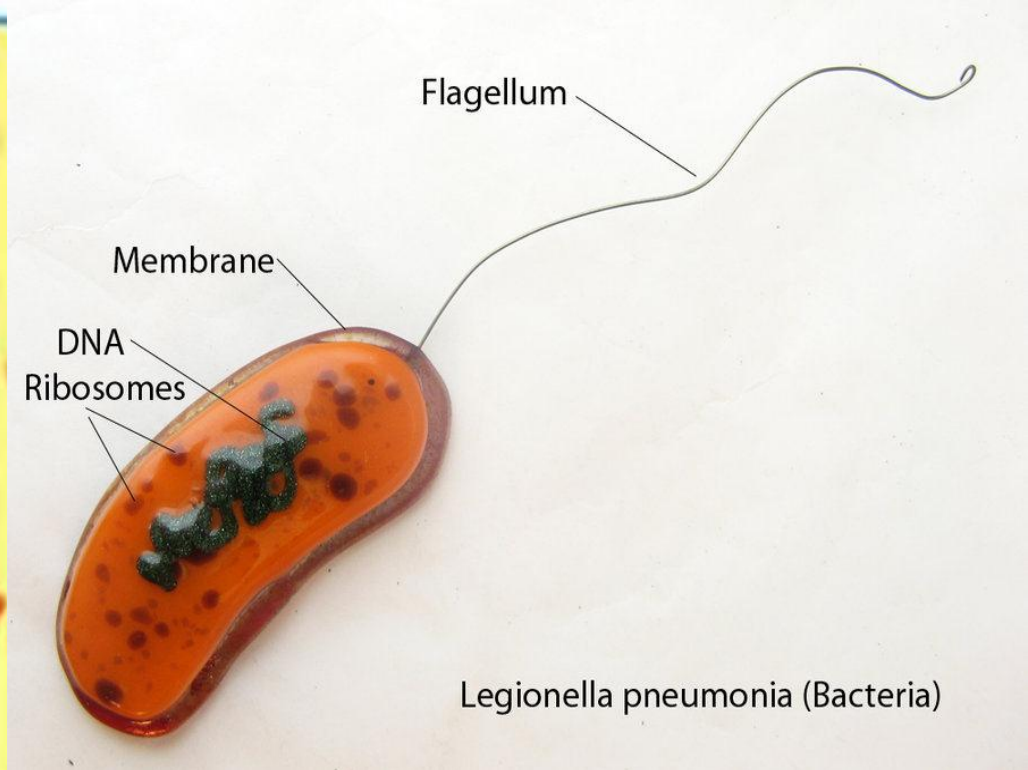


## инфекции

Вид	Количество серогрупп	Связь с клиническими случаями
<i>L. anisa</i>		+
<i>L. binninghamensis</i>		+
<i>L. bozemanii</i>	2	+
<i>L. cherri</i>		+
<i>L. cincinnatiensis</i>		+
<i>L. donaldsonii</i>		+
<i>L. dumoffii</i>		+
<i>L. fairfieldensis</i>		+
<i>L. feeleii</i>	2	+
<i>L. gonnarii</i>		+
<i>L. hackeliae</i>	2	+
<i>L. jordanis</i>		+
<i>L. lansingensis</i>		+
<i>L. longbeachae</i>	2	+
<i>L. lytica (comb. nov.)</i>		+
<i>L. maceachemii</i>		+
<i>L. micdadei</i>		+
<i>L. oakridgensis</i>		+
<i>L. parisiensis</i>		+
<i>L. pneumophila</i>	16	++++
<i>L. sainthelensi</i>	2	+
<i>L. spiritensis</i>	2	+
<i>L. tusconensis</i>		+
<i>L. wadsworthii</i>		+

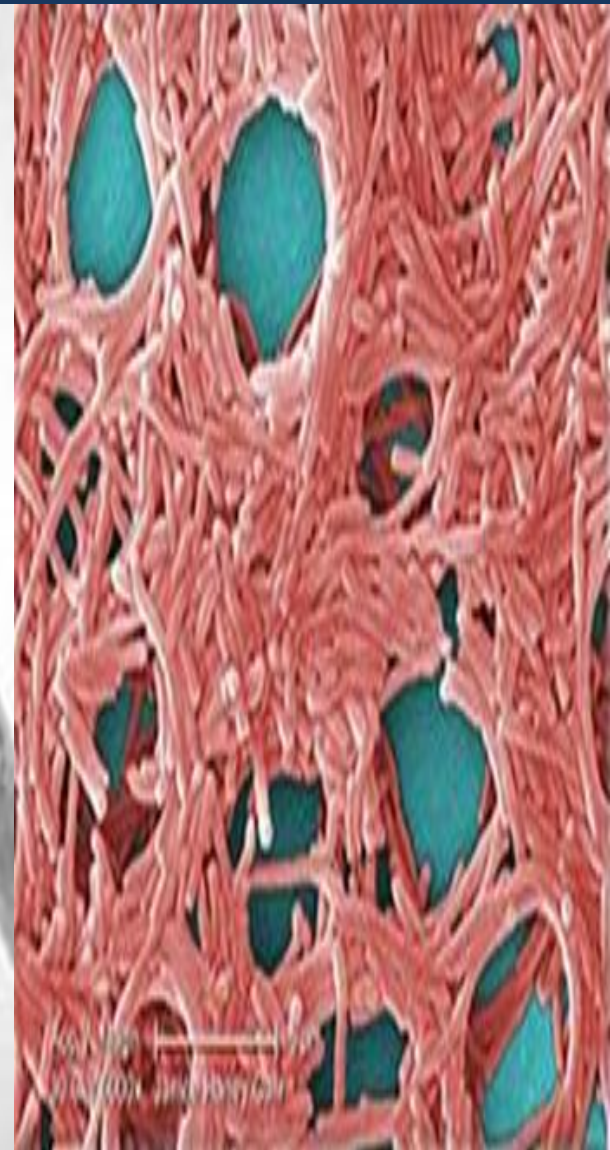


MedUniver.com  
Все по медицине...



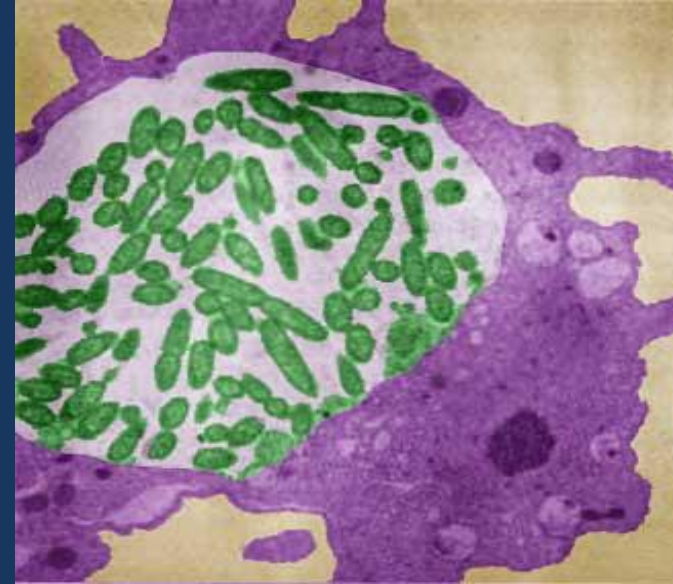
**Рис. 3.63.** Мазок из чистой культуры *L. pneumophila*.  
Легионеллы — грамотрицательные палочки (0,3–0,9 x 2–5 мкм). Подвижные (полярные или латеральные жгутики), некоторые неподвижны. Аэробы. Относятся к неферментирующим бактериям. Требовательны к питательным средам

# Legionella pneumophila на электросканограмме



# ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

Источник - **естественные и искусственные водоемы, различные системы водопользования, технические устройства с использованием воды, а также почва.**



# Факторы риска:

- теплое время года;
- возраст старше 40 лет;
- мужской пол;
- путешествие (отдых с выездом) внутри страны или за рубеж, совпадающее со сроком инкубационного периода (от 2 до 10 дней до начала заболевания);
- наличие вредных привычек (курение, алкоголь, наркомания);
- наличие сопутствующих заболеваний, в первую очередь: диабет, сердечно-сосудистые заболевания, заболевания, сопровождаемые курсом гормональной или (и) интенсивной иммуносупрессивной терапии;
- работа в туристических или гостиничных комплексах;
- занятость на строительных или земляных работах.



# ЭПИДЕМИОЛОГИЯ



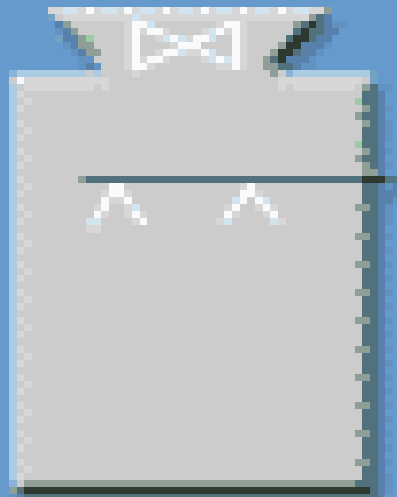
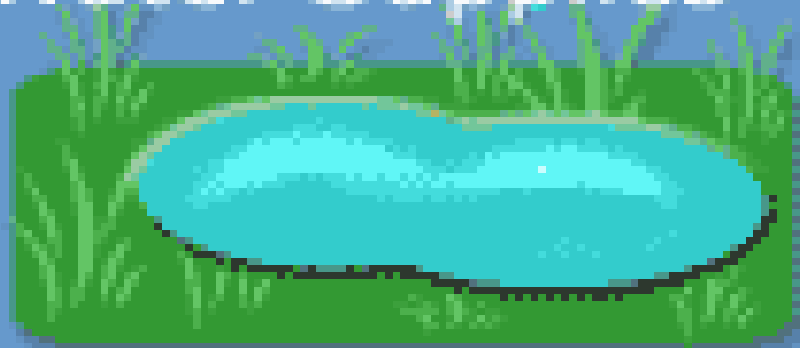
Механизм передачи легионеллеза - аэрозольный,

Путь - воздушно-капельный.

Факторы передачи - мелкодисперсионный водный аэрозоль и вода, контаминированные легионеллами, почва.



Water Supplies

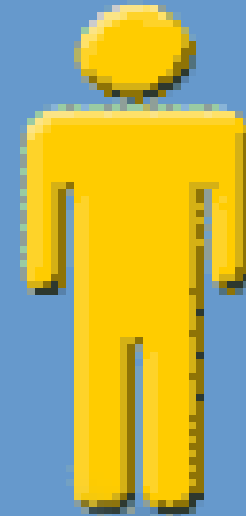


Water Tower

Evaporative Condenser



Host (Infected)



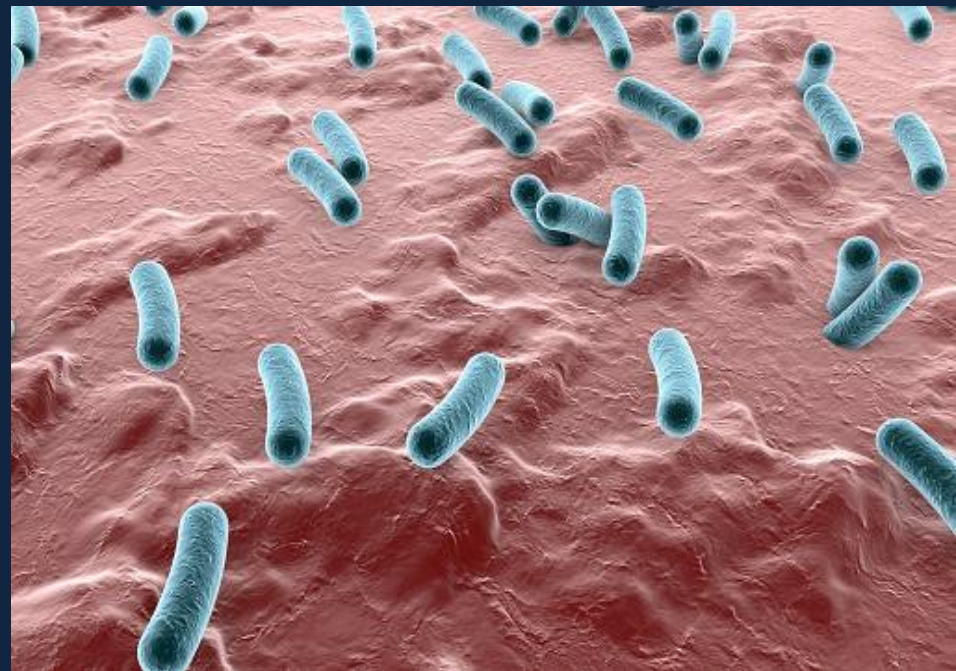


# ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ ЛЕГИОНЕЛЛ

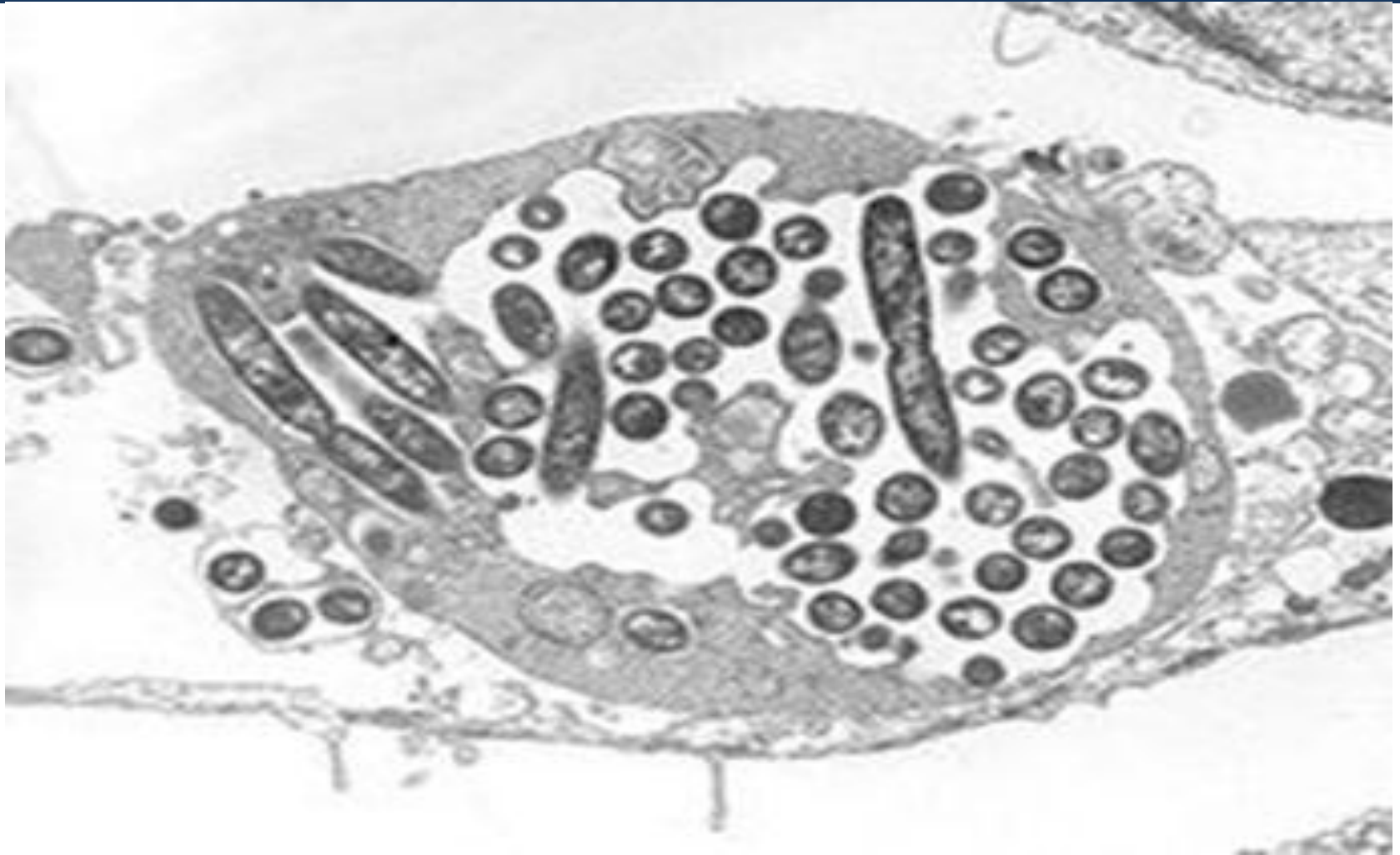
**Термостабильный пептид (ТСтоксин)** - молекулярная масса 1,3 кД, состоящий из 6 аминокислотных остатков. Нарушает окислительные процессы, протекающие в полиморфноядерных лейкоцитах при фагоцитозе.

**Термолабильный цитотоксин (ТЛтоксин)** - высокомолекулярный белок, теряющий токсические свойства при нагревании до 60 °С.

Продукция этого токсина зависит от фазы роста бактериальной популяции, рН среды, температуры и ряда других условий.



**Клетки *L. pneumophila* размножаются в культивируемых фибробластах лёгкого человека**

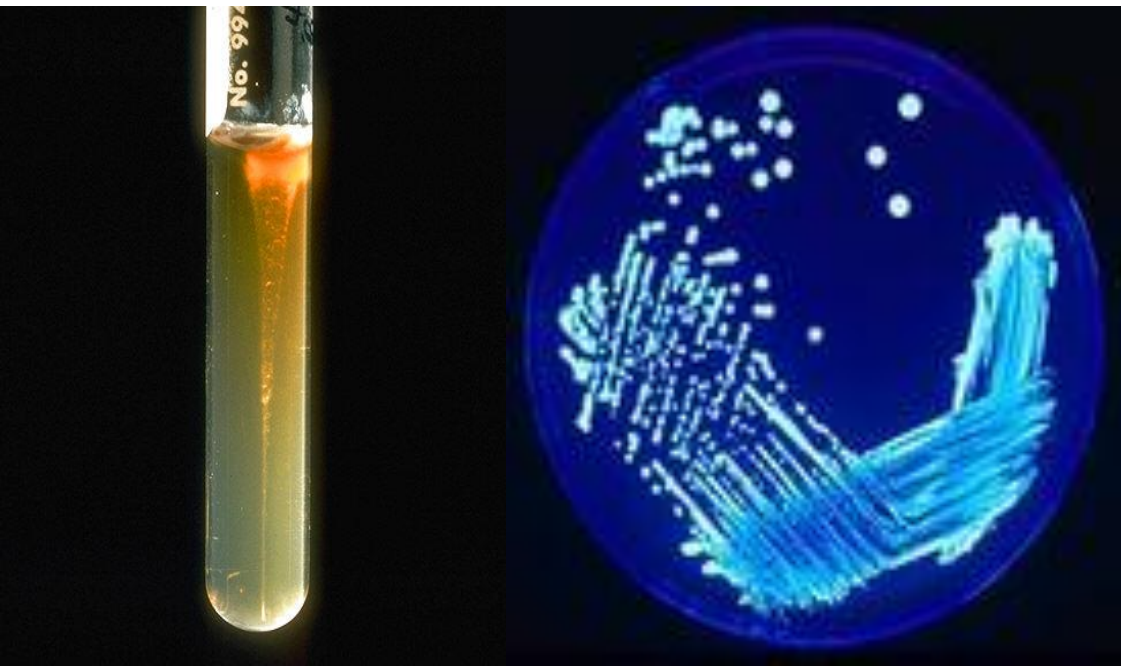
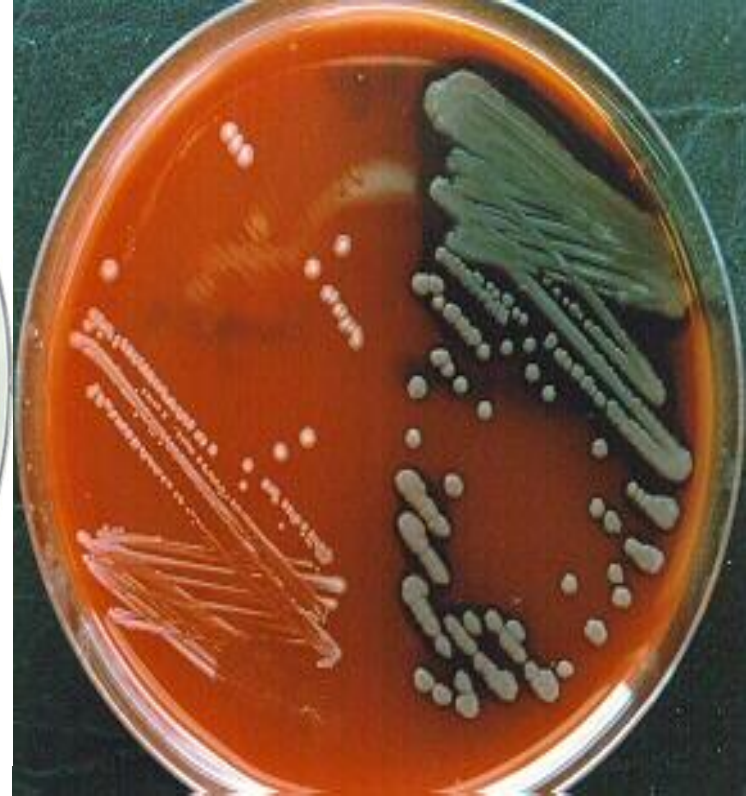


# РОСТ ЛЕГИОНЕЛЛ НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ



- Среда Oxoid





# Среда БУДРАГ для выделения легионелл

Для выделения легионелл используют стандартную среду - буферный угольно-дрожжевой агар (БУДРАГ, ВСУЕа) с ростовой и селективной добавкой (рН 6.95).

## *Компоненты основы среды БУДРАГ (на 1 л)*

Дрожжевой экстракт - 10,0 г

Агар - 13,0 г

Активированный уголь - 2,0 г

а-кетоглутаровая кислота

калийная соль - 1,0 г

ACES-буфер, рН 6,9 - 10 г

1М раствор КОН - 40 мл

Глицин - 3 г

## *Компоненты ростовой добавки (на 1 л)*

L-цистеин - 0,4 г

Пирофосфат железа растворимый - 0,25 г

## *Компоненты селективной добавки (на 1 л)*

Полимиксин В - 80000 ед.

Ванкомицин - 5 мг

Циклогексимид - 80 мг



# СРЕДЫ ДЛЯ РОСТА ЛЕГИОНЕЛЛ

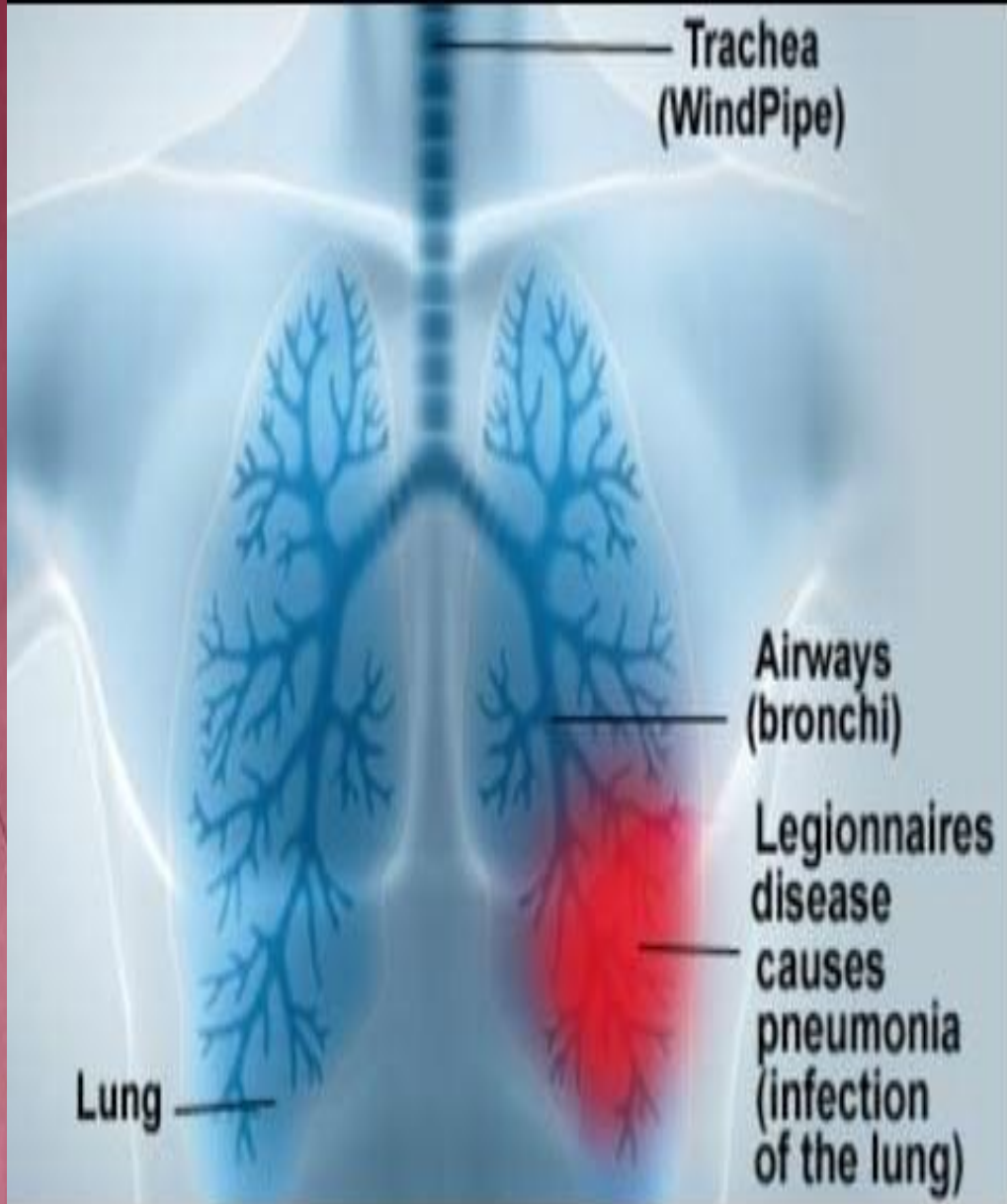
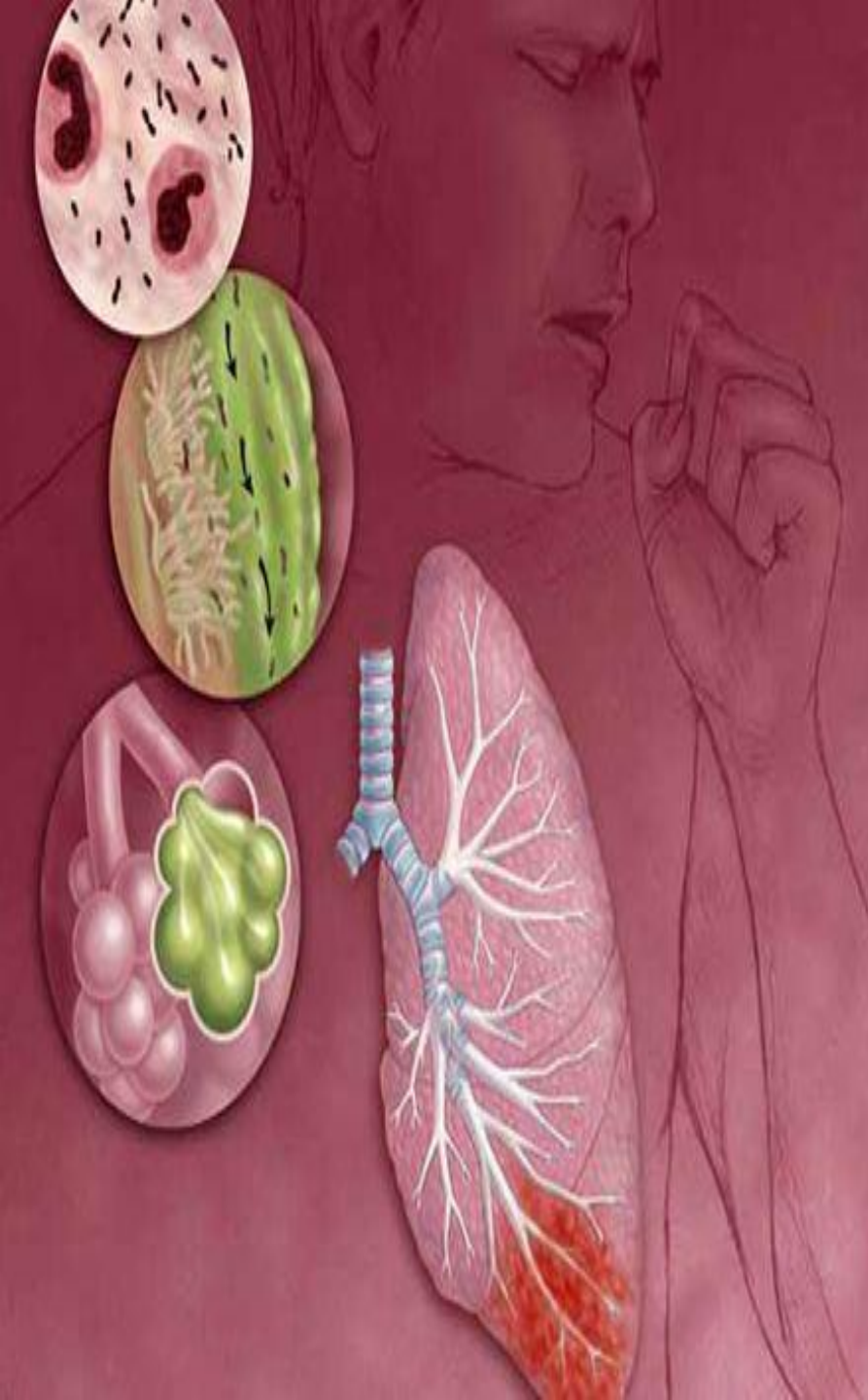
Для **культивирования** легионелл : среда СЭЛ, легионелбакагар, а также шоколадный агар

**Контрольная среда**, не поддерживающая рост легионелл, - среда БУДРАГ без добавления селективной и ростовой добавки.

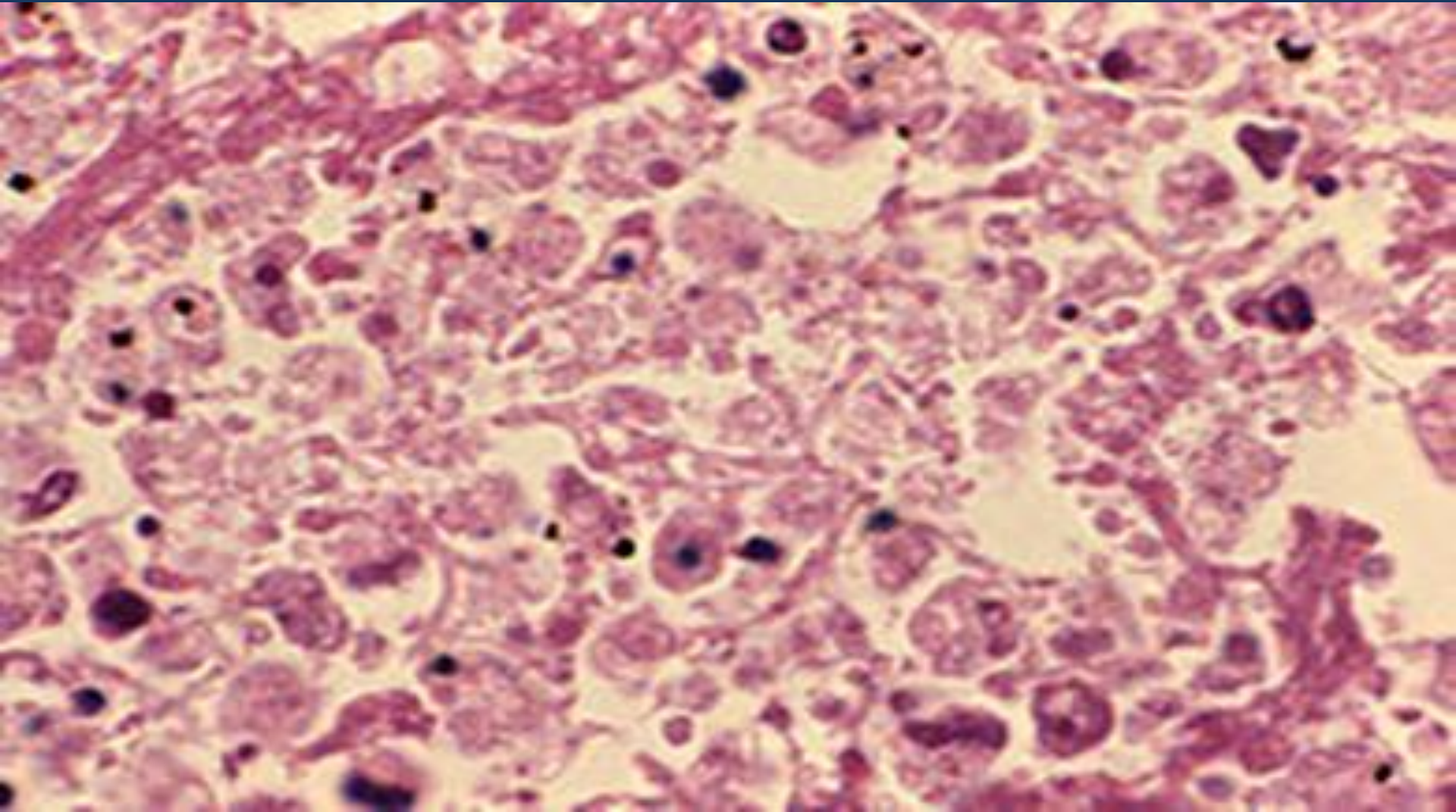
**Пересев колоний** легионелл и **дальнейшее культивирование** - среда БУДРАГ с ростовой, но без селективной добавки.

Музейные штаммы легионелл не столь требовательны к рН и растут на более широком спектре питательных сред.





**Палочки легионеллы (окрашены красным цветом)  
в ткани лёгкого. Ткань обильно инфильтрирована  
лейкоцитами. Отмечаются признаки воспаления  
лёгочной ткани.**





## ПНЕВМОНИЯ ЛЕГИОНЕРОВ (легионеллез)

- Встречается в виде эпидемий.
- Является пневмонической формой болезни легионеров.
- Окончательный диагноз устанавливается на основании серологического обследования.
- Рентгенологические признаки:
  - ранняя стадия: односторонние очаговые тени или округлые инфильтраты на фоне усиленного легочного рисунка;
  - по мере прогрессирования формируются обширные долевые затемнения, процесс распространяется на оба легких;
  - выпот – часто,
  - деструкция – не характерна.



# Понтиакская лихорадка

Протекает по типу острой респираторной вирусной инфекции без поражения легких.

Инкубационный период 6–48 ч.

Клиническая картина не имеет специфических черт. Начало острое.

Характерны сухой кашель, насморк, возможна рвота и жидкий стул.

Течение благоприятное.

Летальных исходов при этой форме болезни не наблюдается



# Лихорадка «Форт-Брэгг»

Инкубация длится от нескольких часов до 10 суток. Основные клинические симптомы:

- лихорадка до 38-38,5°C,

- озноб, головная боль,

- полиморфная сыпь на коже. Шелушение не наблюдается.

Длительность болезни 3-7 дней. Течение благоприятное.



# ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Шесть основных методических подходов, используемых в лабораторной диагностике легионеллеза :

- 1) выделение культуры возбудителя на искусственных питательных средах;
- 2) определение уровня антител в сыворотке крови (используется реакция пассивной гемагглютинации (РПГА) и иммуноферментного анализа (ИФА));
- 3) определение растворимого антигена легионелл в моче с помощью ИФА;
- 4) выявление возбудителя в клиническом материале с помощью метода иммунофлюоресценции (РИФ);
- 5) выявление возбудителя с помощью ДНКзондов или полимеразной цепной реакции (ПЦР);
- 6) выделение легионелл из клинического материала путем заражения морских свинок с дальнейшим посевом ткани селезенки на искусственные среды (биологический метод)

**Таблица 3. Сравнительная характеристика различных методов диагностики инфекции *Legionella pneumophila*, % (Edelstein P., 1994)**

Метод	Чувствительность	Специфичность
Выделение культуры:		
— из мокроты или отделяемого респираторного тракта;	80–90	100
— из биоптата легкого;	90–99	100
— из крови	10–30	100
Выявление растворимого антигена в моче	90–99	99–100
Выявление специфических антител в крови:		
— в парных сыворотках;	75	95–99
— в одиночной сыворотке	Неизвестна	50–70
Выявление возбудителя иммунофлюоресцентным методом с помощью антител:		
— в мокроте или отделяемом респираторного тракта;	25–75	95–99
— в биоптате легкого	80–90	99
Выявление возбудителя в отделяемом респираторного тракта с помощью ДНК-зонда	50–70	95–99
Выявление возбудителя в отделяемом респираторного тракта с помощью полимерной цепной реакции	85	99

# Идентификация *Legionella pneumophila*

**1. Проведение микробиологического анализа**

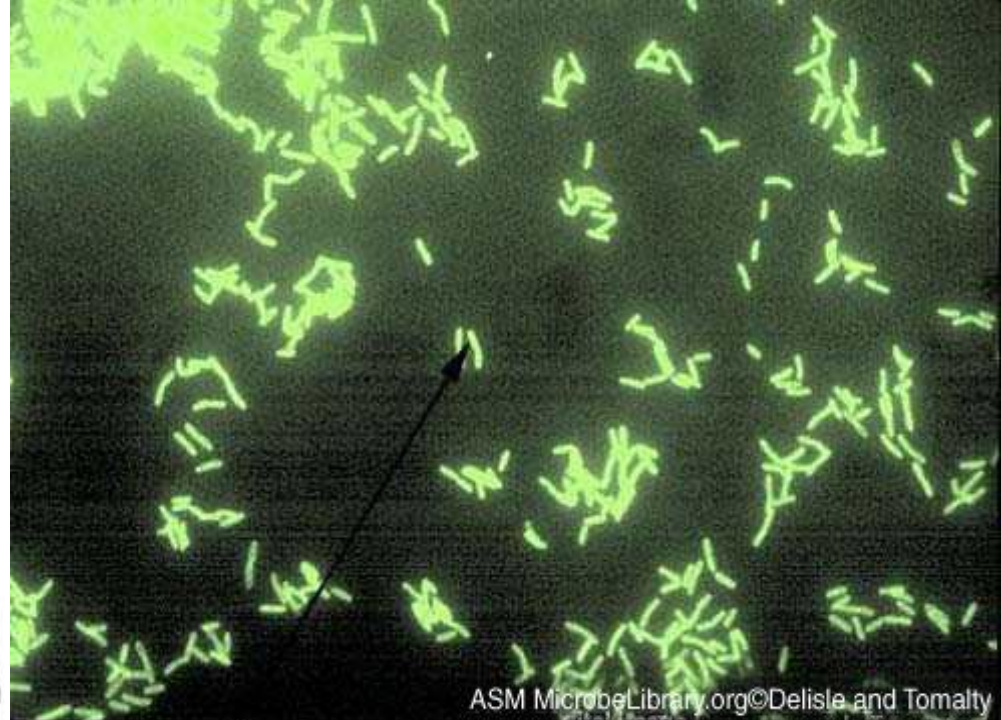
**2. Идентификация *Legionella pneumophila* в латекс-агглютинации**

**3. Идентификация легионелл с помощью МФА**

**4. Идентификация легионелл с помощью ПЦР**

**-Исследование проб методом ПЦР с учетом результатов исследования методом электрофореза в агарозном геле** (Метод используют для ускоренного качественного выявления легионелл в нативном материале.

**-Исследование проб с помощью гибридационно-флуоресцентного метода в режиме реального времени** (Метод используют для ускоренного количественного выявления легионелл в нативном материале. Гибридационно-флуоресцентный метод позволяет сократить время анализа проб по сравнению с бактериологическим методом с 7 - 10 до 1 - 2 суток).



ASM MicrobeLibrary.org © Delisle and Tomalty

Fluorescein-labeled antibody attached to *Legionella* bacilli



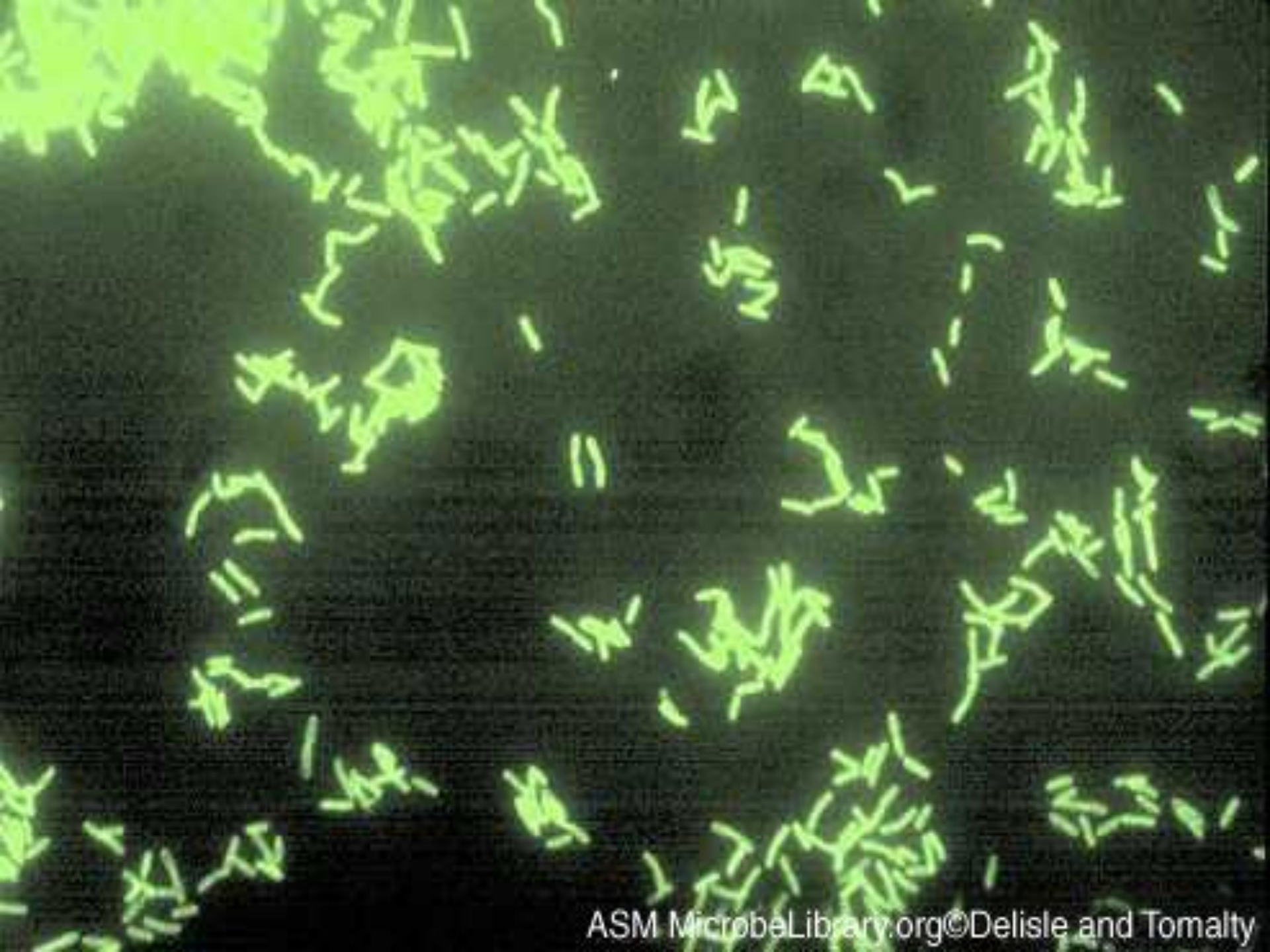
**Таблица 4. Лабораторная диагностика *Legionella spp.*-инфекции\***

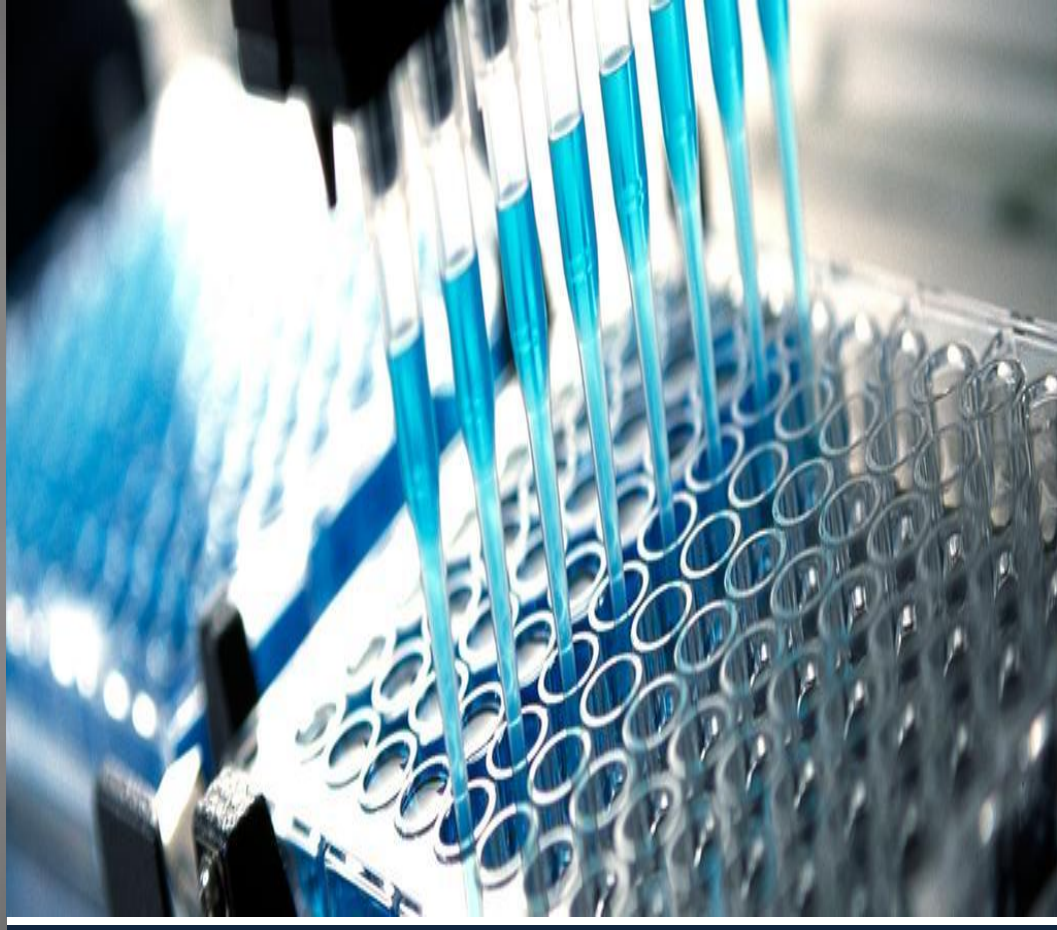
Методы	Цель	Применяемые методы
Культуральные	Выделение возбудителя	Выращивание на питательных средах: агар ВСУЕ $\alpha$ , угольно-дрожжевой агар, легионеллобакт-агар
Иммунологические	Обнаружение антител в крови	Непрямая иммунофлюоресценция
	Обнаружение антигена в клиническом материале	Прямая иммунофлюоресценция
	Выявление растворимого антигена в моче ( <i>Legionella pneumophila</i> , серогруппа 1)	Иммуноферментный метод
Молекулярно-биологические	Обнаружение специфических нуклеотидных последовательностей	ДНК (РНК)-зонды, полимеразная цепная реакция с праймерами <i>tip</i> гена, гена 5S или 16S рРНК

Примечание: РАГА – реакция агрегат-гематтиинации, ИФА – иммуноферментный анализ, РСХ – реакция связывания комплемента, РНГА – реакция непрямой гематтиинации, РИФ – реакция иммунофлюоресценции

\* По И.С.Тартаковскому, 2000 (с изменениями) (5)







# **ИФА ТЕСТ «LEGIONELLA URINARY ANTIGEN EIA»**

# Иммунохроматографический быстрый метод выявления легионеллезного антигена в моче

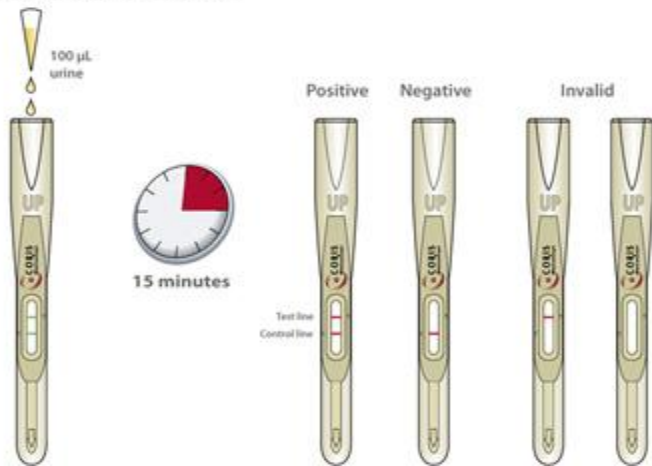
## ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКА ЛЕГИОНЕЛЛЕЗНОЙ ПНЕВМОНИИ

Иммунохроматографический тест «Binax now» для выявления в моче растворимого антигена *Legionella pneumophila*, 1 серогруппа

Чувствительность - >95%  
Специфичность - 80%

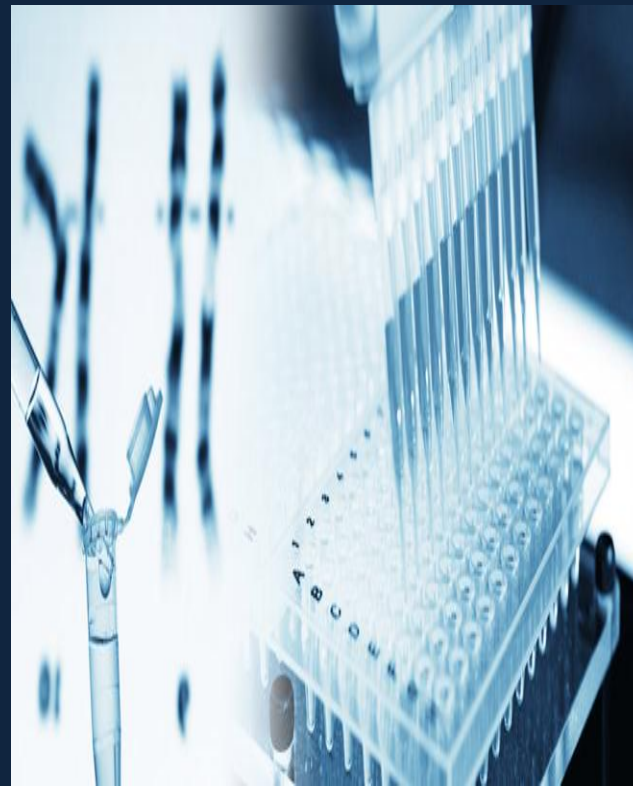


## Legionella V-Test



# ПЦР-метод

Используют праймеры фрагмента *trp* гена или  
*16S rРНК L.pneumophila*



# Лечение легионеллеза



1. Эритромицин **Эффективность повышается при сочетании эритромицина с рифампицином. Курс этиотропной терапии 2-3 недели.**
1. Синтетические препараты группы макролидов (**азитромицин, кларитромицин**) и фторхинолонов.
2. Патогенетическая терапия (**коррекции водно-электролитных расстройств, кислотно-основного состояния, нарушений газообмена**).
3. Кортикостероиды **абсолютно показаны при развитии инфекционно-токсического шока и при выраженной клинике альвеолита.**
4. **Для коррекции гипоксии применяются разные виды оксигенотерапии**



# Профилактические мероприятия :

- общая очистка и промывка системы;
- физическая и (или) химическая дезинфекция;
- резкое повышение температуры воды в системе до 65 град. С и выше;
- применение дезинфицирующих средств, обладающих способностью разрушать и предотвращать образование новых микробных биопленок.





О каждом случае заболевания легионеллезной инфекцией врачи всех лечебно-профилактических организаций, независимо от организационно-правовых форм, в установленном порядке **в течение 12 ч** посылают экстренное извещение по установленной форме (ф. 058/у) в **территориальное учреждение Роспотребнадзора** по месту выявления заболевания, указав диагноз и результаты лабораторного



При выявлении, подтвержденного лабораторно, случая легионеллеза, связанного с путешествием или с пребыванием в стационаре, или 2-х и более, подтвержденных лабораторно, случаев легионеллеза, связанных с одним источником, территориальное учреждение Роспотребнадзора в установленном порядке в течение 24 часов направляет экстренное донесение в адрес Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и в адрес Центра по легионеллезу, сотрудничающего с ВОЗ (123093, г. Москва, ул. Гамалеи, 18, ГУ НИИЭМ им. Гамалеи РАМН).

# ВЫВОДЫ

- 1. Несмотря на широкую распространенность и близкую к человеку среду обитания, возбудитель легионеллеза является еще недостаточно изученным микроорганизмом.**
- 2. Существуют проблемы практического характера в выборе методов диагностики, адекватных средств лечения и проведении профилактических мероприятий в отношении этой инфекции.**
- 3. Наилучшими методами микробиологической диагностики являются: выявление растворимого антигена в моче, выделение культуры легионелл из биоптата легкого. Дополнительные методы диагностики: выявление специфических антител в крови, возбудителя иммунофлюоресцентным методом, ДНКзондом, в полимеразной цепной реакции.**
- 4. Важен дифференцированный подход к диагностике микроорганизмов этого рода, так как часто пневмония возникает именно на фоне заражения легионеллами.**

# НОРМАТИВНЫЕ ДОКУМЕНТЫ



1. «Эпидемиологический надзор за легионеллезной инфекцией. методические указания 3.1.2.2412-08»
2. СП 3.1.2.2626-10 "Профилактика легионеллеза"
3. Методические указания 3.1.2.3047-13  
"Эпидемиологический надзор за внебольничными пневмониями»
- 4 «Организация работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного патогенными биологическими агентами III - IV групп патогенности». МУ 1.3.1888-04

Комплект оборудования и расходные материалы для диагностики легионеллёза в окружающей среде

Пробоотборник воздуха SAS-PCR Legionella (производство PVI International (Италия)).

При отборе пробы воздуха для посева на Legionella первоначальной целью является установление присутствия микроорганизмов в аэрозольных каплях.

Пробоотборник позволяет определить конкретный микроорганизм, присутствующий в воздухе, подсчитать концентрацию жизнеспособных микроорганизмов,



КОНДИШН

Легионер!!!

KRAJE





**БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ !!!!**







В 2004 г. по 7 случаев легионеллёза отмечалось в Воронежской области и Санкт-Петербурге.

В 2005 г. из всех зарегистрированных случаев заболевания 3 отмечалось в Воронежской области,  
12 случаев — в Санкт-Петербурге,  
по 2 в Ставропольском крае и Волгоградской области,  
7 случаев в Мордовии.

Вспышка легионеллезной пневмонии была зафиксирована на Среднем Урале в июле 2007 года в Верхней Пышме. Инфекция попала в квартиры через систему горячего водоснабжения из-за нарушения требований по промывке труб и сливу воды. В больницах оказались более 160 горожан, 5 человек скончались.

Также вспышка легионеллезной пневмонии была зафиксирована в период с 22 ноября 2011 года по 22 мая 2012 года среди туристов, отдохавших в отеле Caip в Испании, было зарегистрировано 23 случая легионеллёза, 4 из которых закончились летальным исходом.

# Три основные группы заболеваний по характеру приобретения инфекции:

- внебольничная пневмония легионеллезной этиологии (эпидемические вспышки и спорадические случаи),
- нозокомиальный легионеллез (внутрибольничная инфекция, 20-25%)
- легионеллез, связанный с поездками, путешествиями (travel-associated legionellosis, 30-40%).



# Дифференциальный диагноз

Дифференциальный диагноз проводят с острыми пневмониями другой этиологии. При этом учитывают особенности легионеллёза: характерный эпиданамнез (заражение при приёме душа, кондиционирования воздуха), летнее-осенняя сезонность, преимущественное развитие у лиц с отягощённым преморбидным фоном (ИДС), полиорганность поражений (почки, печень, ЖКТ), а также отсутствие эффекта от применения препаратов, применяемых при лечении острых пневмоний (пенициллин, цефалоспорин). Решающее значение имеют результаты микробиологических, серологических и молекулярно-генетических исследований, выявляющих легионеллу, ее антигенные субстанции, ДНК микроорганизма или антительный ответ на ее присутствие.

# Стандарт диагностических критериев легионеллеза

- При выделении культуры легионелл из отделяемого респираторного тракта или легочной ткани.
- При 4-кратном или более нарастании титра специфических антител к *Legionella pneumophila* серогруппы 1 в реакции непрямой иммунофлюоресценции.
- При определении растворимого антигена *Legionella pneumophila* серогруппы 1 в моче иммуноферментным или иммунохроматографическим методом.
- При отсутствии сыворотки крови, взятой в ранние сроки болезни, выявление достоверно высокого уровня антител к *Legionella pneumophila* серогруппы 1 (1:128 и выше) в одиночной сыворотке методом непрямой иммунофлюоресценции позволяет считать диагноз легионеллеза предположительно установленным. Аналогичным образом интерпретируются результаты, полученные на основании выявления возбудителя или его ДНК в респираторном секрете или легочной ткани с помощью прямой иммунофлюоресценции или ПЦР.

## Основной метод стандартов

Определение легионеллезного антигена в моче иммунохроматографическим или иммуноферментным методом. Метод позволяет окончательно подтвердить диагноз в течение 1-3 часов. Превосходство данного метода над другими, включенными в стандарт методами, состоит прежде всего в сроках исследования и доступности клинического материала.



Бактериологический метод занимает не менее 4-5 суток, причем требуются инвазивные процедуры по получению материала бронхоскопии, биопсии, так как из мокроты, особенно после начала этиотропной терапии, возбудитель удается выделить далеко не всегда. Выявление диагностического нарастания титров антител в реакции непрямой иммунофлюоресценции возможно лишь на 3-ей неделе заболевания, когда проведен курс антибиотикотерапии и исход заболевания обычно ясен. Необходимость исследования парных сывороток определяет ретроспективный характер диагностики легионеллеза данным методом.

Целенаправленные профилактические мероприятия в отношении водных систем, потенциально опасных в отношении распространения легионеллезной инфекции проводятся:

- При обнаружении **Legionella pneumophila** в образцах воды в концентрации, **превышающей 10 КОЕ на литр и выше**, на основании чего делается вывод о колонизации данного объекта легионеллами в концентрации, представляющей эпидемическую опасность.



- При определении **общего микробного числа (ОМЧ)** при 30 ° С в образцах воды в концентрации, **превышающей 10 КОЕ на мл**, что является следствием неудовлетворительной эксплуатации данного объекта.
- При выявлении **био пленок**, содержащих **легионеллы**, на поверхности оборудования, которые являются **ключевым фактором накопления эпидемически значимых концентраций легионелл**.
- При выявлении **Legionella pneumophila** и **Legionella spp.** в любой концентрации (в том числе **менее 10 КОЕ на литр воды**) в системе водоснабжения, водных растворах и оборудовании **лечебно-профилактических организаций**.

