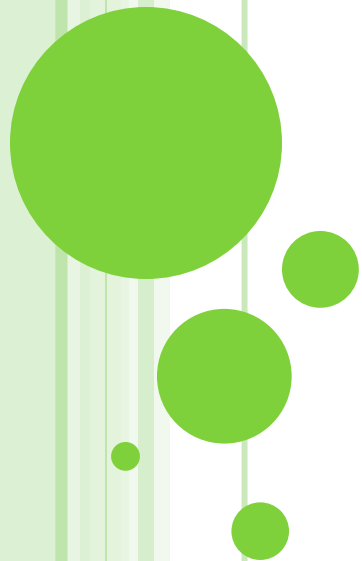


ВОЗБУДИТЕЛИ ЛЕГИОНЕЛЛЕЗА



ЛЕГИОНЕЛЛЁЗ («БОЛЕЗНЬ ЛЕГИОНЕРОВ», ПОНТИАКСКАЯ ЛИХОРАДКА, ЛЕГИОНЕЛЛА-ИНФЕКЦИЯ)

- сапронозное острое инфекционное заболевание с аэрогенным механизмом передачи, вызываемое бактериями рода *Legionella*. Заболевание протекает, как правило, с выраженной лихорадкой, общей интоксикацией, поражением легких, центральной нервной системы, органов пищеварения, возможно развитие синдрома полиорганной недостаточности.



ИСТОРИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

- В июле 1976 года более 4000 участников съезда Американского легиона собралось в Филадельфии (штат Пенсильвания). Это был 49-й ежегодный съезд. По окончании съезда заболел 221 человек, из них 34 скончалось.
- Впервые Гр(-) палочка, отнесенная к роду *Legionella* была выделена из легочной ткани умершего человека посетившего съезд Дж. Мак-Дейдом и С. Шепардом в 1977 году, через полгода после описанной вспышки.
- Ранее в 1965 г. Вспышка в Вашингтоне. В 1968 г. В Понтиаке.



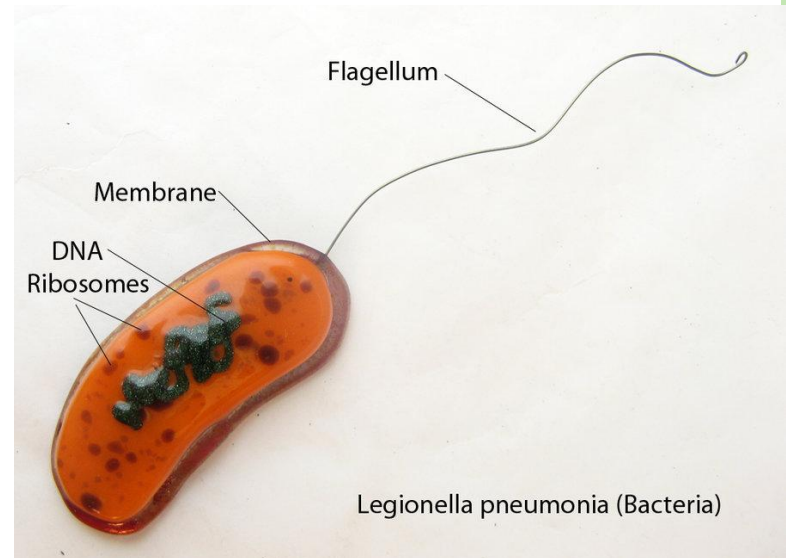
ЭКОЛОГИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ

- Легионеллы являются сапрофитами и широко распространены в природе.
- Размножение их активно идет в теплой воде в диапазоне температур 20 - 45 °С.
- Условия для выживания легионелл в искусственных сооружениях более благоприятны, чем в естественных, что приводит к накоплению в них возбудителя в высоких концентрациях.
- Легионеллы являются факультативными внутриклеточными паразитами. В организме человека они размножаются преимущественно в альвеолярных макрофагах, полиморфно-ядерных нейтрофилах и моноцитах крови.



ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ БОЛЕЗНИ ЛЕГИОНЕРОВ

- ДНК-содержащие, Гр(-) палочки, способные длительно сохраняться в окружающей среде.
- Не образуют эндоспор, капсул
- Растут в аэробных условиях
- Подвижны за счет одного, двух или большего числа жгутиков.



ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ БОЛЕЗНИ ЛЕГИОНЕРОВ

- *Не ферментируют углеводы, не образуют уреазу, не восстанавливают нитраты, разжижают желатин*
- *Не растут на обычных питательных средах, что связано с потребностью возбудителя в L-цистеине и в растворимом пирофосфате железа.*
- *Легионеллы значительно устойчивы. В воде из крана при $t +4^{\circ}\text{C}$ они выживают в течение года, в дист. воде- 120 дней, при $t -70^{\circ}\text{C}$ – несколько лет а при $+32\dots+40^{\circ}\text{C}$ могут даже размножаться.*
- *Дезинфицирующие растворы быстро инактивируют возбудителя: 70% раствор спирта, 5% раствор йода, 1% раствор формалина, 5% раствор фенола и т.д.*



ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ

Легионеллы имеют термостабильный эндотоксин, обладают гемолитической, цитотоксической активностью.



Legionella pneumophila на электросканограмме



Эпидемиология

• *Легионеллёз* — это сапронозная инфекция, главным местом обитания легионелл являются абиотические объекты окружающей среды.

• *Резервуар возбудителя* — это вода и почва, в природе легионеллы обнаруживаются в пресных водоёмах.

• *Механизм передачи* аэрогенный. Основными факторами передачи являются воздух, вода (в виде водного аэрозоля) и почва (пыль).

Восприимчиво к инфекции население *всех возрастных групп*.

Возраст больных, у которых заболевание протекает с поражением легких 50-60 лет, а заболевших лихорадкой Понтиак- 18- 39 лет.

Болезнь легионеров в 2-4 раза чаще регистрируется у мужчин.

Выраженная сезонность: вспышки в летнее время года.

Легионеллы могут быть причиной вспышек внутрибольничных пневмоний.



L. PNEUMOPHILA ВЫДЕЛЯЮТ ИЗ

- жидкости кондиционеров;
- промышленных и бытовых систем охлаждения;
- бойлерных и душевых установок бассейнов, спортзалов, казарм, бань и жилых помещений, водных судов;
- оборудований для респираторной терапии;
- резиновых поверхностей (например, шланги водопроводного, медицинского и промышленного оборудования);
- фонтанов и систем орошения садов и газонов;
- тёплых вод, сбрасываемых электростанциями

***Фактов передачи инфекции от человека к человеку
не установлено!!!***



КЛИНИЧЕСКИЕ ФОРМЫ ЛЕГИОНЕЛЛЕЗА

- болезнь легионеров (легионеллезная пневмония)
- лихорадка Понтиак или острый респираторный легионеллез (как правило протекает без осложнений)
- спорадический легионеллез
- нозокомиальный (внутригоспитальный, внутрибольничный) легионеллез



По степени тяжести различают течение:

- Субклиническое
- Легкое
- Средней тяжести
- Тяжелое
- Крайне тяжелое (молниеносное)




ПАТОГЕНЕЗ

К группам риска инфицирования относят:

- 1. больных с иммунодефицитом различного происхождения
- 2. лиц пожилого и старческого возраста
- 3. людей, страдающих хроническими заболеваниями сердца, почек, легких, а также диабетом
- 4. хронических курильщиков и алкоголиков.

Воротами инфекции является слизистая оболочка респираторного тракта (реснитчатый эпителий). Легионеллы адгезируются на альвеолярных макрофагах нижних дыхательных путей через рецепторы комплемента и проникают в их лизосомы, таким образом предотвращая свою гибель, и размножаются свободно в кислой среде. Незавершенный фагоцитоз. Патологические изменения охватывают, как правило, не менее одной доли лёгкого и протекают в виде сливной пневмонии. Воспалительный процесс распространяется на терминальные бронхиолы и альвеолы (более крупные бронхи обычно интактны). В зоне поражения обнаруживается массивная экссудация полиморфоядерных нейтрофилов и макрофагов с явлениями интенсивного лизиса лейкоцитов, накопление ядерного детрита и фибрина.



Отмечается также выраженный отёк интерстициальной ткани. Далее происходит диссеминация и генерализация процесса. В результате действия токсинов легионелл может развиваться инфекционно-токсический шок и ДВС- синдром, увеличение печени (застойная печень) и селезенки, отек легких, нарушение кровообращения в сердечной мышце, развитие миокардита, перикардита. В ответ на агрессию легионелл организм вырабатывает антитела различных классов. У перенесших болезнь легионера обнаруживают антитела класса IgG.



ОБЩЕКЛИНИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ:

- ▣ **ОАК:** лейкоцитоз ($10-17 \times 10^9/\text{л}$), сдвиг лейкоцитарной формулы влево, в тяжелых случаях: тромбоцитопения, выраженная лимфопения, ускорение СОЭ до 80 мм/ч.
- ▣ **ОАМ:** токсическая альбуминурия, гематурия, цилиндрурия, может быть лейкоцитурия, олигоурия, анурия.
- ▣ **Биохимические исследования:** повышение активности трансаминаз, повышение мочевины и креатинина, появление С-реактивного белка, может быть повышение фибриногена и билирубина.
- ▣ **При микроскопии мазков** окрашенных по Граму, обнаруживают множество полиморфноядерных нейтрофилов, моноцитов.



СБОР И ТРАНСПОРТИРОВКА МАТЕРИАЛА ОТ БОЛЬНЫХ ЛЕГИОНЕЛЛЕЗОМ

- 1. Для получения сыворотки у больных берут в стерильные пробирки кровь из вены в количестве 3 - 5 мл в первые дни и на 14 - 21 день болезни (не ранее 10 дня). Отделившуюся сыворотку отсасывают в стерильную пробирку и запаивают в ампулы, и хранят при +4 °С.
- 2. Мочу больных на 3 - 7 день болезни в количестве 3 - 5 мл собирают в стерильную пробирку, плотно закрытую резиновой пробкой, и помещают для кратковременного хранения при +4 °С. Для длительного хранения материал замораживают.
- 3. Плевральный экссудат, материал бронхоскопии, полученный стерильно до 10-го дня болезни в количестве от 0,5 до 5 мл, помещают в стерильную пробирку, плотно закрытую резиновой пробкой, и хранят при +4°С.



СБОР И ТРАНСПОРТИРОВКА МАТЕРИАЛА ОТ БОЛЬНЫХ ЛЕГИОНЕЛЛЕЗОМ

4. При сборе секционного материала образцы пораженных участков легочной ткани, печени и селезенки (по 2 - 3 кусочка размером 1 x 1 см) вырезают обработанными 70-процентным спиртом и прожженными в пламени спиртовки инструментами, помещают в стерильные пробирки или флаконы, плотно закрывают резиновыми пробками.

Поверхность пробирок и флаконов обрабатывают дезинфицирующим раствором (70% спирт, 1% формалин, 2% хлорамин). Транспортировку материалов осуществляют в жестяных коробках с крышками или металлических биксах в возможно короткие сроки. Для кратковременного хранения материал помещают при +4 °С. Длительное хранение материала (до 1 года) возможно лишь при температуре -70 °С.



ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА:

▣ **Серологический анализ**

Основным методом является определение легионеллезного антигена в моче **иммунохроматографическим** или **иммуноферментным** методом. Методы позволяют окончательно подтвердить диагноз в течение 1 - 3 ч. Превосходство данного метода над другими состоит прежде всего в сроках исследования и доступности клинического материала.

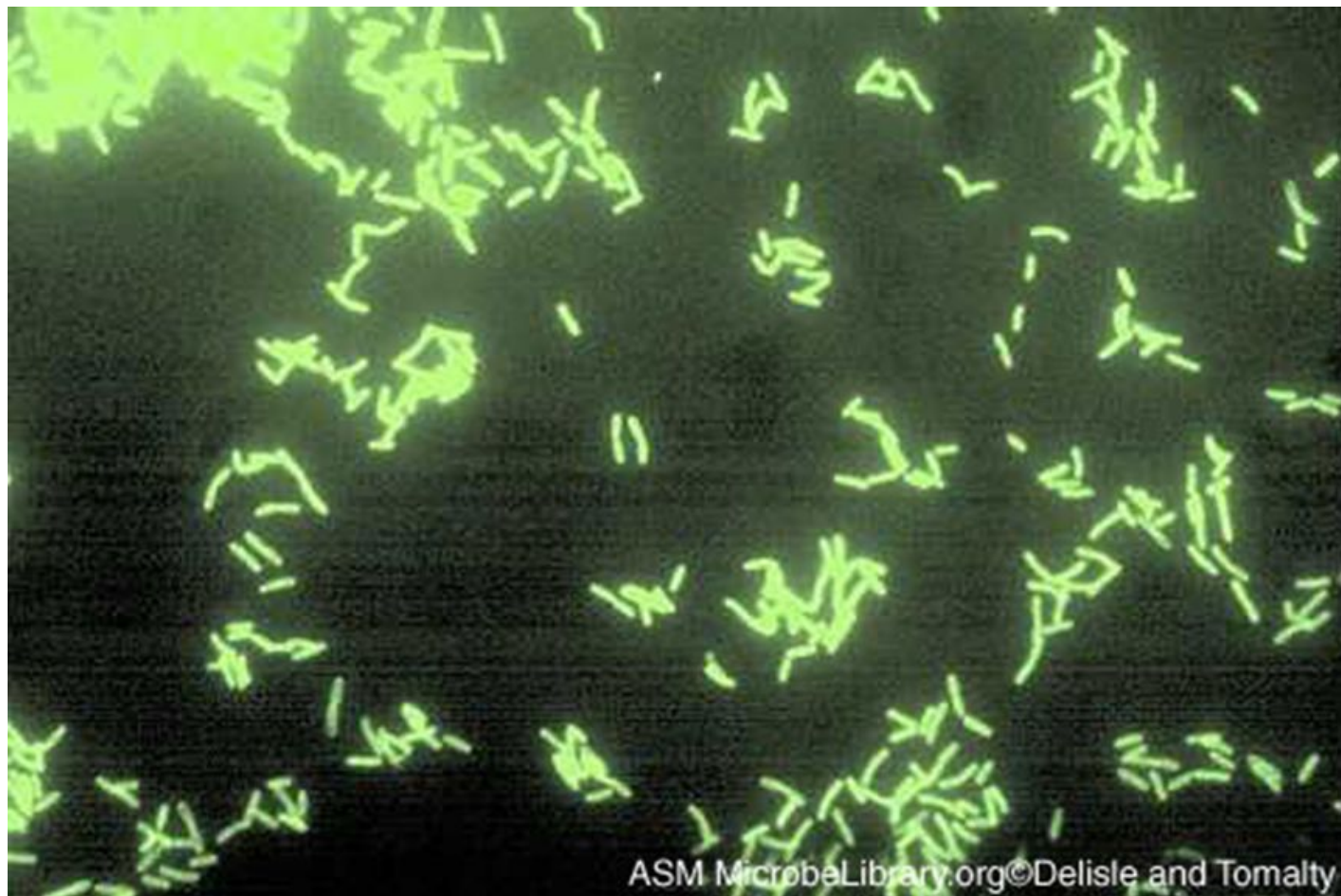


ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЛЕГИОНЕЛЛ С ПОМОЩЬЮ МФА (МЕТОД ФЛУОРЕСЦИРУЮЩИХ АНТИТЕЛ)

- На предметном стекле из капли исследуемого материала делают тонкий мазок, который подсушивают на воздухе при комнатной температуре и фиксируют в ацетоне в течение 15 мин. Препараты хранят при 4 °С до обработки люминесцирующей сывороткой. На поверхность фиксированного мазка наносят «рабочее разведение» легионеллезной люминесцирующей сыворотки. Препарат окрашивают 20 мин при 37 °С во влажной камере. Затем мазки промывают 10 - 15 мин в фосфатном буфере (рН 7,2), ополаскивают дистиллированной водой, высушивают на воздухе, наносят глицериновую или другую нефлуоресцирующую иммерсионную среду, покрывают покровным стеклом и просматривают в люминесцентном микроскопе при увеличении 90.



В ПОЛОЖИТЕЛЬНОМ СЛУЧАЕ ПОСЛЕ ОБРАБОТКИ ДАННОГО ПРЕПАРАТА СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЛЕГИОНЕЛЛЕЗНОЙ ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩЕЙ СЫВОРОТКОЙ ОБНАРУЖИВАЕТСЯ СПЕЦИФИЧЕСКОЕ ИЗУМРУДНО-ЗЕЛЕНОЕ СВЕЧЕНИЕ ЛЕГИОНЕЛЛЕЗНЫХ БАКТЕРИЙ.



ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА:

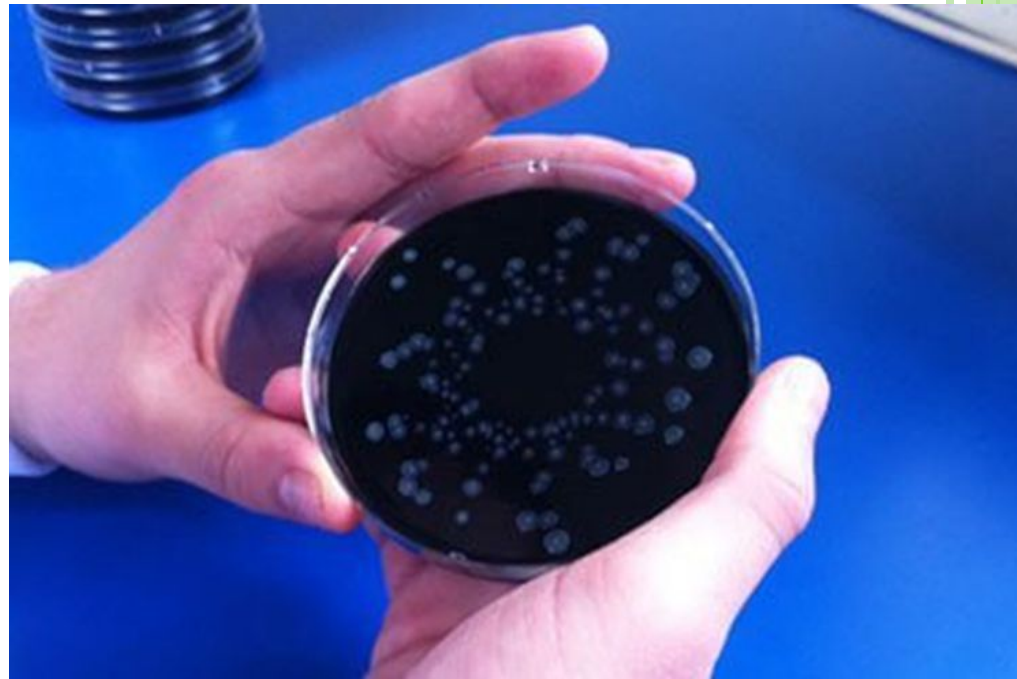
▣ **Бактериологический метод**

Возбудителя редко удастся выделить от больного. Для исследования берут материал бронхоскопии, плевральную жидкость, легочный экссудат. Описаны единичные случаи выделения возбудителя из мокроты, крови. Значительно чаще выделяют возбудитель из секционного материала (легочной ткани). При бактериологическом исследовании на легионеллез применяют **посев на специальные питательные среды и биологическую пробу на чувствительных животных.**



ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА:

- Возбудитель легионеллеза не растет на обычных питательных средах, в том числе очень богатых (мясо-пептонный агар, агар Хоттингера и др.).
- Выделение возбудителя от больных проводят на специальных питательных средах, применяемых для культивирования легионелл с обязательным добавлением L-цистеина и растворимого пирофосфата железа. Наибольшее распространение получила **угольно-дрожжевая среда.**

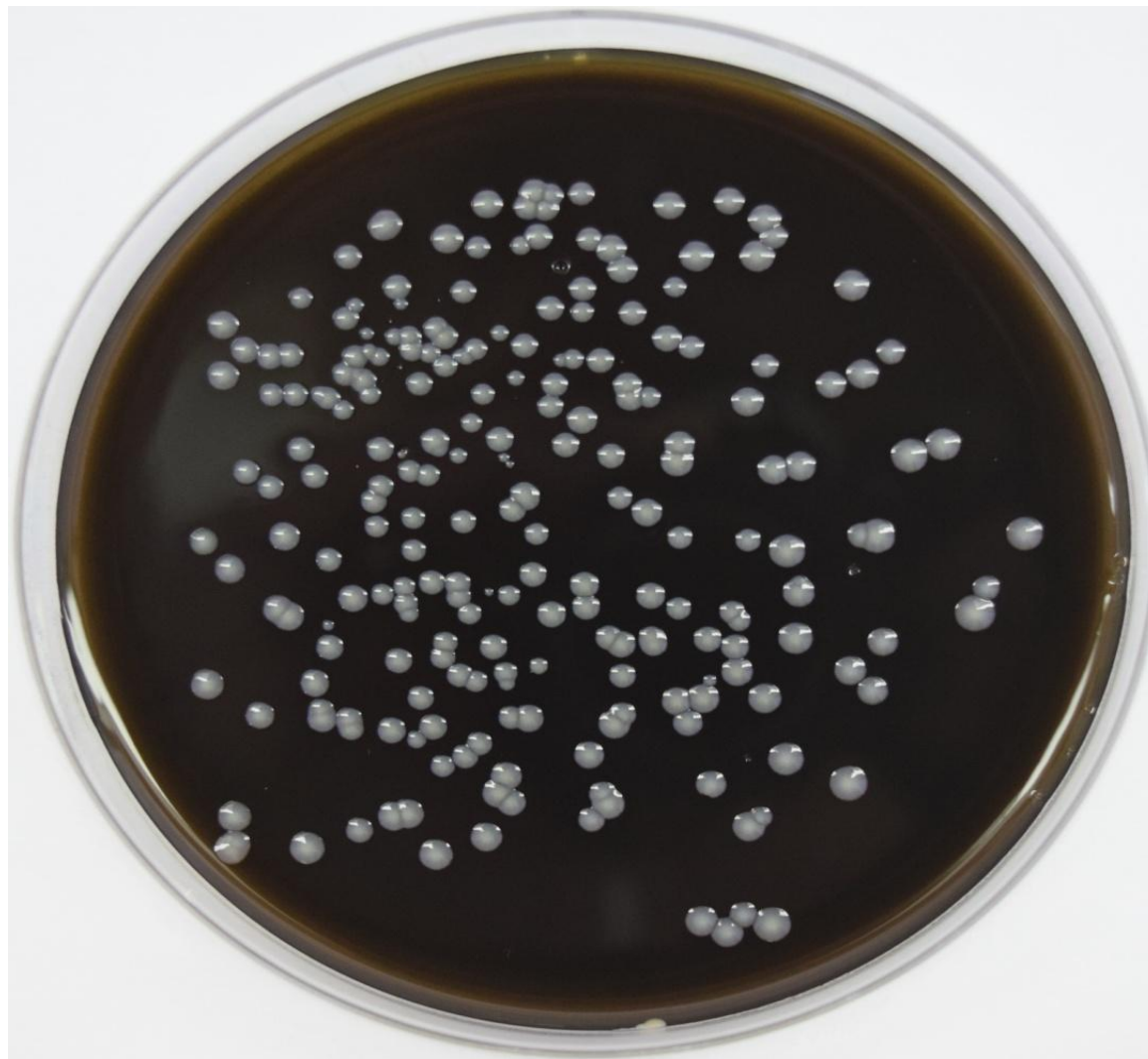


ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА:

При подготовке к высеву жидкие образцы разводят 1:10 фосфатным буфером (рН - 7,2). Высевают разведенный и цельный образец в количестве 0,2 мл. При исследовании секционного материала кусочек ткани массой 1 г растирают в стерильной ступке и готовят 10% суспензию ткани в фосфатном буфере (рН - 7,2). Приготовленную суспензию разводят 1:50 тем же буфером и высевают на среды.

Рост колоний из клинического материала наблюдается не ранее чем через 4 - 5 суток. Максимальное количество видимых колоний обычно вырастает на 8 - 10 сутки. При подозрении на рост легионелл колонии пересевают на ту же среду и на среду, не поддерживающую рост легионелл (контрольную среду). В качестве контрольной среды обычно используют агар Хоттингера. Рост колоний во втором пассаже на угольно-дрожжевой среде при отсутствии роста на контрольной среде с большой долей вероятности позволяет заподозрить легионеллез и указывает на необходимость дальнейшей идентификации.

***ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА
ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛЕГИОНЕЛЛ***



Legionella pneumophila Philadelphia 1



ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА:

Биологическая проба является чувствительным методом обнаружения легионелл в исследуемом материале. Для биологической пробы используют морских свинок весом 250 - 300 г, которые заболевают и гибнут от легионеллезной инфекции при внутрибрюшинном заражении суспензией, содержащей бактерии.

Через 12 - 48 часов у морских свинок возникает лихорадочное заболевание с подъемом температуры до 39,5 - 41 °С, прострацией и поражением глаз. Срок наблюдения за животными до 10 дней.



ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА:

В большинстве случаев животные погибают от легионеллеза с характерными патологическими изменениями. В мазках-отпечатках из селезенки и легких при окраске по Романовскому - Гимза обнаруживают, как правило, значительное количество легионелл, а при посеве на угольно-дрожжевой агар через 48 - 72 часа появляется рост культуры.



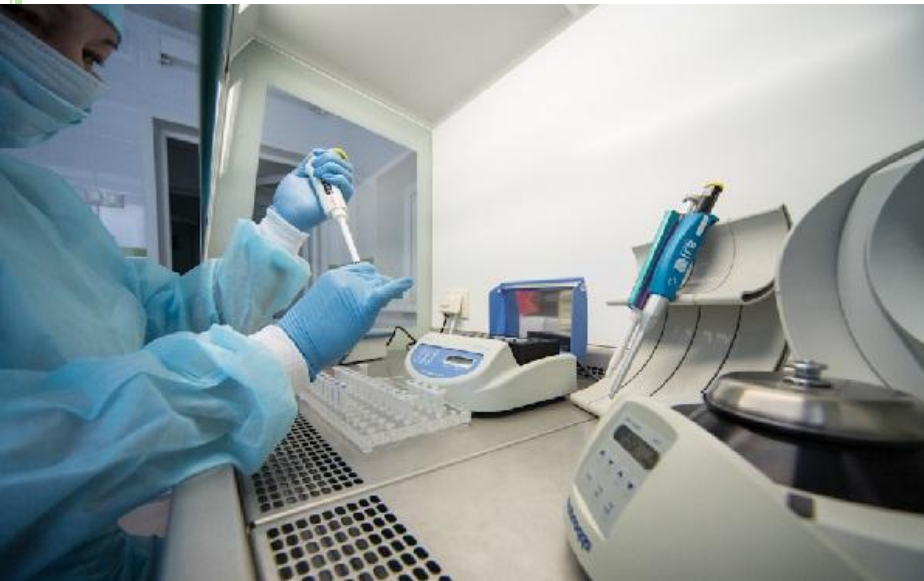
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЛЕГИОНЕЛЛ С ПОМОЩЬЮ ПЦР

Для постановки ПЦР используют сертифицированные ПЦР тест-системы, основанные на выявлении фрагментов генов, специфичных для бактерий рода *Legionella* и вида *Legionella pneumophila*. Амплификацию выполняют согласно прилагаемой к тест-системе инструкции.



ПЦР-АНАЛИЗ

- Достоинствами ПЦР являются высокие чувствительность и специфичность, а также быстрота получения результатов, возможность выявления низких концентраций возбудителя в исследуемом материале.
- Проведение ПЦР осуществляют в соответствии с МУ 1.3.1888-04 «Организация работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного патогенными биологическими агентами III - IV групп патогенности».



ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА:

Необходимо проводить с острыми пневмониями другой этиологии (характерный эпиданамнез (заражение при приёме душа, кондиционирования воздуха), летнее-осенняя сезонность, полиорганность поражений (почки, печень, ЖКТ), а также отсутствие эффекта от применения препаратов, применяемых при лечении острых пневмоний (пенициллины, цефалоспорины);

пневмонией, обусловленной РС- вирусом;

туберкулезом легких;

инфарктом легких.

Наибольшее значение в диагностике отводится эпидемиологическому анамнезу, клиническим особенностям, но решающую роль играют специфические методы исследования (выявление возбудителя и антител).



ЛЕЧЕНИЕ ЛЕГИОНЕЛЛЕЗА

Приоритет в этиотропной терапии остается за **антибиотиками**, обладающими способностью воздействовать на микроорганизмы, расположенные внутриклеточно: *макролиды, фторхинолоны, кетолиды, рифампицины, тетрациклины.*



Больным лихорадкой Понтиак специфического лечения не требуется в связи с самостоятельно разрешающимся характером заболевания. В этих случаях проводится лишь *симптоматическая терапия*

При тяжелой пневмонии наибольшую эффективность демонстрируют **азитромицин** или **левофлоксацин**, которые назначаются в острый период внутривенно капельно в течение трех суток с последующим переходом на прием внутрь.

Патогенетическая терапия предполагает осуществление респираторной поддержки в случаях острой дыхательной недостаточности.



ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ

- Должны быть направлены на снижение количества возбудителей в водных системах, системах вентиляции и кондиционирования воздуха физическим, химическим и механическим способами.

1. Физический:

- 1.1. периодический (1 раз в сут) прогрев воды в эксплуатируемых системах ГВС до 60 °С.
- 1.2. установка перед выходом воды из трубопровода ГВС обеззараживающих устройств (бактерицидные ультрафиолетовые установки, комбинированные фильтры)



1.3. обезвреживание воздуха ультрафиолетовыми облучателями.

2. Химический:

2.1. применение дезинфицирующих средств (водные системы, системы вентиляции и кондиционирования воздуха).


2.2. озонирование.

3. Механический:

3.1. применение воздушных фильтров тонкой очистки и фильтров сверхвысокой эффективности.



ВЫБОР ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ СРЕДСТВ.

- для дезинфекции систем вентиляции и кондиционирования воздуха предпочтительнее использовать четвертично-аммониевые соединения (ЧАС), катионные поверхностно-активные вещества, соли аминов, производные гуанидинов, т. к. они обладают моющим эффектом, не портят изделия, не фиксируют органические соединения.
 - в водных системах эффективнее применять хлорирование или озонирование.
 - в ЛПУ целесообразно применение автономных устройств очистки воздуха и воздушных фильтров тонкой очистки и сверхвысокой эффективности.
- 

Прогноз

- Летальным исходом оканчивается порядка 30% случаев заболевания, нередко это связано с отсутствием своевременной медицинской помощи и ослабленным общим состоянием организма больных. Сопутствующие хронические заболевания, курение, иммунодефициты повышают риск неблагоприятного исхода в 2-3 раза.
- После благополучного перенесения легионеллеза последствий для организма обычно не отмечается, в редких случаях возможно сохранение в легких очагов фиброза (снижение объема дыхания).



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

