

УДК 616.24-002-022.7:579.83

Практические рекомендации по диагностике и лечению легионеллезной инфекции, вызываемой *Legionella pneumophila* серогруппы 1

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

¹ НИИ пульмонологии Росздрава, Москва

² Государственный институт усовершенствования врачей МО РФ, Москва, Россия

³ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, Москва, Россия

⁴ НИИ антимикробной химиотерапии, Смоленск, Россия

⁵ Министерство здравоохранения Свердловской области, Екатеринбург, Россия

⁶ Уральская государственная медицинская академия, Екатеринбург, Россия

⁷ Министерство здравоохранения и социального развития РФ, Москва, Россия

Legionella spp. относятся к категории нечастых, но весьма серьезных возбудителей инфекций респираторного тракта. Рост интереса к легионеллезной инфекции в Российской Федерации обусловлен первой масштабной вспышкой, зарегистрированной в 2007 г. в Свердловской области. В настоящих практических рекомендациях представлена биология легионелл, особенности клинической картины различных форм легионеллезной инфекции (лихорадка Понтиак, болезнь легионеров), современные подходы

к антибактериальной терапии. Обсуждаются методы лабораторной диагностики легионеллеза и критерии постановки диагноза. Подробно описана техника проведения и интерпретация результатов иммунохроматографического экспресс-теста по обнаружению антигена *L. pneumophila* серогруппы 1 в моче.

Ключевые слова: *Legionella pneumophila* серогруппы 1, легионеллез, диагностика, лечение, практические рекомендации

Guidelines on Diagnosis and Treatment of *Legionella pneumophila* Serogroup 1 Infection

A.G. Chuchalin¹, A.I. Sinopalnikov², I.S. Tartakovski³, T.I. Karpova³, Y.E. Dronina³, O.V. Sadretdinova³, R.S. Kozlov⁴, Z.D. Bobyleva⁵, I.V. Leschenko⁶, D.O. Mikhailova⁷, S.A. Rachina⁴

¹ Research Institute of Pulmonology, Moscow, Russia

² State Institute of Postgraduate Medical Education of Ministry of Defense, Moscow, Russia

³ Research Institute of Epidemiology and Microbiology Named Under N.F. Gamaleya, Russian Academy of Medical Science, Moscow, Russia

⁴ Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

⁵ The Ministry of Health of Sverdlovskaya Territory, Yekaterinburg, Russia

⁶ Ural State Medical Academy, Yekaterinburg, Russia

⁷ The Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, Moscow, Russia

Контактный адрес:
Александр Игоревич Синопальников
Тел./факс: 8(499) 263-5372
Эл. почта: aisyn@list.ru

Legionella spp. is an uncommon but important causative pathogen of respiratory tract infections occurring both sporadically and in epidemics. An interest in it has emerged recently after outbreak of legionellosis in Sverdlovsk region. In this guidelines biological characteristics of *Legionella* spp., description of two clinical enti-

ties of legionellosis (Pontiac fever and Legionnaires disease) and current approaches to antibacterial therapy are reviewed. Diagnostic methods and criteria of Legionnaires disease diagnosis are also discussed with an emphasis on

available immunochromatographic test for the detection of *Legionella pneumophila* serogroup 1 in urine.

Key words: *Legionella pneumophila* serogroup 1, legionellosis, diagnosis, treatment, guidelines.

Введение

Первая эпидемическая вспышка легионеллеза была зарегистрирована летом 1976 г. в Филадельфии (США), когда из 4400 участников конгресса ветеранской организации «Американский легион» у 221 (5%) развилась тяжелая пневмония, для 34 (15,4%) из них 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 *Chlamydomphila pneumoniae*. Тем не менее, значительный интерес к проблеме легионеллеза сохраняется во всем мире. Хотя в целом уровень заболеваемости легионеллезной инфекцией невелик, спорадические случаи и эпидемические вспышки заболевания, сопровождающиеся летальными исходами, ежегодно выявляются в различных странах мира (табл. 1).

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 были госпитализированы (97,5%). 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*.

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

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 известны 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 преморбидном 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

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

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 эпидемиологическую опасность.

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

Особенности клинического течения легионеллеза

В клинической картине заболевания отсутствуют патогномоничные 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 sporadической заболеваемости существенно различаются, выделяют следующие клинические формы легионеллеза: острый респираторный легионеллез – лихорадка Понтиак; легионеллезную пневмонию – болезнь легионеров согласно Международной классификации болезней, травм и причин смерти X пересмотра (1990 г.); sporadический 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 ч и может колебаться от 6 до 66 ч. 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 – $9 \cdot 10^9/\text{л}$ – $18 \cdot 10^9/\text{л}$. 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 легио-

неров составляет обычно 2–10 дней, однако на фоне иммунологических нарушений он может быть более продолжительным – до трёх 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 ранних симптомов и прогрессирует при неадекватном лечении, частота дыхания достигает 40–50 в 1 мин. Нарастающая острая дыхательная недостаточность, требующая респираторной поддержки, диагностируется у 20–30% больных. В ряде случаев развивается инфекционно-токсический шок.

При обследовании выявляется бронхиальное дыхание, крепитация, усиленная бронхофония, локальные мелко- и среднепузырчатые хрипы; при долегах 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: больных беспокоит тошнота, рвота, боли в животе, диарея. Гепатомегалия является одним из характерных признаков болезни легионеров. В тяжёлых 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 сут 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, увеличение 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 тяжёлых 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 тяжёлых случаях больные погибают от нарастающей дыхательной недостаточности, развития респираторного дистресс-синдрома, а в условиях продолжительной реанимации – от полиорганной недостаточности. Летальность в различных вспышках колеблется от 8 до 40% и определяется своевременностью диагностики, сроками назначения этиотропной терапии и её эффективностью.

Поражение лёгких 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 лёгких определяется распространённая двусторонняя грубая крепитация, напоминающая влажные хрипы. Крепитация имеет свои акустические особенности и сохраняется длительно, что позволяет отличить её от типичной крепитации при бактериальной пневмонии, вызванной пиогенными микроорганизмами.

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 легионеллез-

ной инфекции, включение в стандарты антимикробной химиотерапии внебольничной пневмонии антибиотиков, активных в отношении легионелл (макролиды, фторхинолоны), популяризация и все более широкое использование экспресс-методов определения растворимого антигена *L. pneumophila* серогруппа 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 гг. 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, то 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, т.е. 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 (klarитромицин, азитромицин), так же как и эритромицин, обладают высокой активностью против *L. pneumophila*, а азитромицин помимо этого демонстрирует значимые постантибиотический и субингибирующий эффекты в отношении данного возбудителя. Стоит отметить, что более высокая, по сравнению с klarитромицином, минимальная подавляющая концентрация (МПК) азитромицина нивелиру-

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

Антибиотик	МПК ₉₀ , мкг/мл
Левифлоксацин	0,008–0,016
Моксифлоксацин	0,008–0,03
Гемифлоксацин	0,016–0,03
Ципрофлоксацин	0,016–0,06
Азитромицин	1,2
Кларитромицин	0,22
Эритромицин	0,46

ется высокой внутриклеточной концентрацией последнего.

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

Прогнозируемое преимущество «респираторных» фторхинолонов было продемонстрировано в ряде клинических исследований (табл. 3). Так, в частности, применение левифлоксацина по сравнению с эритромицином и klarитромицином сопровождалось более быстрым достижением стойкого отсутствия лихорадки, меньшей длительностью пребывания пациентов в стационаре, и, как следствие этого, большей фармакоэкономической эффективностью. Весьма важно то, что лечение фторхинолонами (левифлоксацин, офлоксацин) сопровождалось 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.

По мнению большинства авторов, при тяжелом течении болезни легионеров предпочтение следует отдавать «респираторным» фторхинолонам (левифлоксацин, 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 пациента необходимо вводить препараты внутривенно. Следует учитывать также, что для болезни легионеров характерна дисфункция желудочно-кишечного тракта, что в значительной мере может повлиять на биодоступность антибиотика при его приеме внутрь.

В большинстве случаев для достижения положительного результата достаточна монотерапия,

Таблица 3. Клиническая эффективность левофлоксацина/офлоксацина при лечении легионеллезной пневмонии*

Ссылка	Число больных		Время достижения апирекции, ч		Длительность госпитализации, дни		Летальность, %		Нежелательные явления, %		Примечание
	М	Ф	М	Ф	М	Ф	М	Ф	М	Ф	
Sabria M., et al., 2005	76	54	77	48	9,9	7,6	7,8	5,5	–	–	Эритромицин vs. левофлоксацин, офлоксацин
Mykietiuik A., et al., 2005	80	40	108	48	10	8	5	2,5	30	20	Эритромицин и кларитромицин vs. левофлоксацин
Blazquez-Garrido R.M., et al., 2005	65	143	108	104	7,2	4,4	0	0,6	15,3	10,4	Кларитромицин vs. левофлоксацин

Примечание:

* Адаптировано из: Sabria` M., Pedro-Botet M.L., Gomez J., et al. For the Legionnaires' disease therapy group. Fluoroquinolones versus macrolides in the treatment of Legionnaire's disease. Chest 2005; 128: 1401–5; Mykietiuik 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: 794–9; Blazquez-Garrido R.M., Espinosa Parra F.J., Alemany Frances L., et al. Antimicrobial chemotherapy for Legionnaire's disease: levofloxacin versus macrolides. Clin Infect Dis 2005; 40: 800–6.

М – макролиды (эритромицин, кларитромицин); Ф – фторхинолоны (офлоксацин, левофлоксацин).

а комбинированное лечение резервируется для лечения отдельных случаев тяжелого течения заболевания, рефрактерного к стандартной терапии. Рекомендуемые комбинации антибиотиков: цiproфлоксацин + эритромицин; цiproфлоксацин + кларитромицин; эритромицин + рифампицин; цiproфлоксацин + кларитромицин + рифампицин.

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

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.

Таблица 4. Рекомендуемые режимы антибактериальной терапии легионеллезной пневмонии

Антибиотик	Дозировка
Макролиды:	
эритромицин	500 мг каждые 6 ч перорально 500–1000 мг каждые 6 ч внутривенно ¹
азитромицин	500 мг каждые 24 ч ²
кларитромицин	500 мг каждые 12 ч ²
Тетрациклины:	
доксциклин	100 мг каждые 12 ч или 200 мг каждые 24 ч ²
тетрациклин	500 мг каждые 6 ч
Фторхинолоны:	
левофлоксацин ³	500 мг каждые 24 ч ²
моксифлоксацин ³	400 мг каждые 24 ч ²
ципрофлоксацин	500–750 мг каждые 12 ч внутрь 400 мг внутривенно каждые 8–12 ч ⁴
Другие препараты:	
рифампицин	600 мг каждые 12 ч ²

Примечание:

¹ предпочтительно назначение азитромицина (кларитромицина), поскольку эритромицин в дозе 2 г/сут может оказывать ототоксический эффект, устраняющийся при отмене или снижении дозы препарата;

² внутривенно или перорально;

³ рекомендуется в особо тяжелых случаях, преимущественно у пациентов с выраженным иммунодефицитом;

⁴ дозировка может быть повышена до 400 мг каждые 8 ч у пациентов, находящихся на искусственной вентиляции легких.

Лабораторная диагностика

В связи со сходством клинических проявлений легионеллезной и пневмококковой пневмонии быстрая и эффективная лабораторная диагностика приобретает решающее значение для выбора тактики этиотропной терапии больных. В 1999 г. и в 2002 г. экспертами ВОЗ и Европейской рабочей группой по легионеллезу в качестве диагностических критериев приняты стандарты, согласно которым диагноз легионеллеза 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 легионеллеза 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.

Пункты 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*. 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 связи с этим в таких случаях 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 третьего 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 мин 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 нижеследующее.

1. Набор реагентов для диагностики легионеллезной инфекции «Бинакс» (США) (Регистрационное удостоверение Росздравнадзора выдано НИАРМЕДИК ПЛЮС 19.06.2008 г., № ФСЗ 2008/02110). 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 хранят при комнатной температуре (15–30 °С) не более 24 ч 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.

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 мин и интерпретируются по наличию или отсутствию визуально различимых окрашенных линий от розового до пурпурного цвета (см. рисунок).

Положительный результат включает выявление двух окрашенных линий в зоне чтения результата тестирования пациента 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 слабозеленоватого до белого в течение 15 мин после постановки и не должен мешать чтению результата теста.

Интерпретация результатов (см. рисунок)

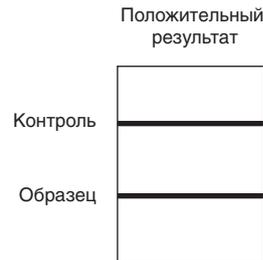
Обработка результатов (рекомендуемое заключение по результату).

Положительный результат на наличие антигена *L. pneumophila* серогруппы 1 в моче позволяет

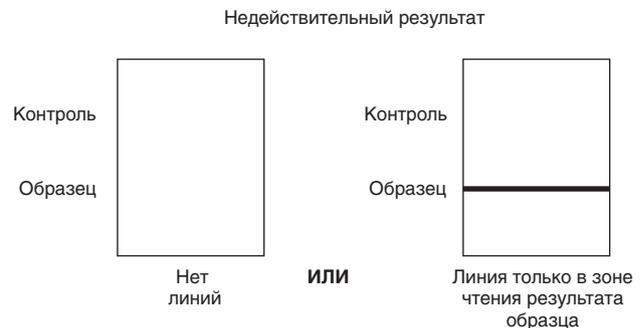
Негативный (отрицательный) образец дает одну окрашенную линию от розового до пурпурного цвета. Эта контрольная окрашенная линия расположена в верхней половине окна чтения результатов, указывая на предположительно отрицательный результат. Наличие этой контрольной линии свидетельствует о том, что процедура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



Положительный 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.



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



Учет и интерпретация результатов иммунохроматографического исследования

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*. 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* повышается.

Заключение

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

- тяжелое течение внебольничной пневмонии;
- наличие известных клинических и эпидемиологических факторов риска легионеллезной инфекции;
- прогрессирующее течение внебольничной пневмонии, несмотря на адекватный выбор β -лактамовых 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. Клин микробиол антимикроб химиотер 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. Клин микробиол антимикроб химиотер 2008; 10(2):113-21.
4. Тартаковский И.С., Гинсбург А.Л., Михайлова Д.О. и др. Применение стандартов лабораторной диагностики легионеллеза во время эпидемической вспышки пневмоний в городе Верхняя Пышма Свердловской области. Клин микробиол антимикроб химиотер 2007; 9(4):361-8.
5. Тартаковский И.С., Синопальников А.И. Легионеллез: роль в инфекционной патологии человека. Клин микробиол антимикроб химиотер 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/