УДК 616.24-008.87-07:579.841

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ДИАГНОСТИКЕ ЛЕГИОНЕЛЛЕЗА

А.С. Благонравова, к. м. н., **О.А. Чубукова,**
ГОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития»
Благонравова Анна Сергеевна, *к. м. н., зав. отделом лабораторных исследований НИИ профилактической медицины НижГМА – раб. тел.: (831) 436-94-81, e-mail: a.blagonravova@mail.ru*

В статье представлено современное состояние проблемы диагностики легионеллеза. По данным литературы описываются клинические и лабораторные методы диагностики, проводится сравнение существующих в настоящее время лабораторных методов, указываются существенные недостатки и преимущества каждого.

Ключевые слова: легионеллез, лабораторная диагностика, критерии лабораторной диагностики, эпидемиологический надзор.

Contemporary condition of the problem of legionellosis diagnostics is given in the article. Clinical and laboratory diagnostic methods are described in accordance with the literature data. Contemporary laboratory methods are compared; important defects and advantages of each method are demonstrated.

Key words: legionellosis, laboratory diagnostics, criteria of laboratory diagnostics, epidemiological inspection.

Проблема легионеллезной инфекции привлекает все большее внимание различных специалистов. Это связано с тем, что по всему миру ежегодно возрастает число зарегистрированных спорадических случаев и эпидемических вспышек данного заболевания, сопровождающегося высокой летальностью. В связи с распространением легионеллеза необходимо быстро и точно диагностировать случаи заболеваний и проводить комплекс противоэпидемических и профилактических мероприятий.

Разработка методов диагностики легионеллеза началась сразу после открытия возбудителя заболевания в 1977 году. В настоящее время в этой области достигнуты существенные

успехи. Диагностика легионеллезной инфекции носит комплексный характер и предусматривает оценку клинической картины заболевания в сочетании с данными эпидемиологического анамнеза и результатами лабораторных исследований [1].

Клинические проявления легионеллеза неспецифичны и наблюдаются при различных заболеваниях. Они могут варьировать в широких пределах – от симптомов легкого респираторного заболевания до тяжелых полиорганных поражений. Различают собственно болезнь легионеров, лихорадку Понтиак, лихорадку Форт-Брагг (сопровождается кожными высыпаниями) [2]. Самой значимой с клинико-эпидемиологической точки зрения формой заболевания является болезнь легионеров, которая сопровождается тяжелой пневмонией, а нередко и поражением других органов, трудно поддается лечению пенициллином и его аналогами, характеризуется высокой летальностью. Коллектив авторов из Winthrop-University Hospital предложил критерии диагностики легионеллезной пневмонии с помощью оценочной шкалы (таблица 1) [3].

ТАБЛИЦА 1.

Критерии клинической диагностики легионеллезной пневмонии

Критерий	Пример 1	Пример 2	Пример 3
Головная боль (1)	1	1	-
Энцефалопатия (2)	-	-	2
Сонливость (3)	-	3	-
Боль в ушах (3)	-	-	-
Непродуктивный кашель (3)	-	-	-
Гнойная мокрота (2)	-2	-	-
Дисфония (3)	-	-	-
Кровохарканье (1)	-	-	-1
Плевральные боли (2)	2	-	-2
Диарея (3)	3	-	-
Абдоминальные боли без диареи (5)	-	-	-
Относительная брадикардия (5)	-	-	-
Отсутствие ответа на бета-лактамные антибиотики (5)	-	-	-
Острая почечная недостаточность (5)	5	-	-
Гипонатриемия (100)	1	1	1
Гипофосфатемия (4)	-	-	-
Увеличение содержания сывороточных трансаминаз (4)	-	4	-
Повышение уровня общего билирубина (2)	-	-	-
Увеличение титра холодового агглютинина (3)	-	-	-
Повышение уровня креатинина (1)	1	-	-
Микрогематурия (2)	-	-	2
ИТОГО БАЛЛОВ	**11**	**9**	**2**

***Примечания. 1. Пример 1 –** высокая вероятность легионеллезной инфекции, **пример 2 –** диагноз легионеллеза вероятен, **пример 3** – диагноз легионеллеза маловероятен. **2.** Чувствительность этой шкалы 78% с доверительным интервалом 95%, специфичность 65% с таким же доверительным интервалом.*

Особенностью эпидемиологии легионеллезной инфекции является выделение трех основных групп по характеру возникновения заболевания: внебольничная инфекция, внутрибольничная (нозокомиальная) инфекция и легионеллез, связанный с поездками и путешествиями (travel-associated legionellosis).

Для постановки диагноза легионеллезной инфекции и своевременного назначения адекватной этиотропной терапии решающее значение имеют лабораторные методы исследования, включающие этиологическую расшифровку каждого случая инфекции. С 2002 г. Европейской рабочей группой по легионеллезу в качестве диагностических критериев приняты стандарты лабораторной диагностики. В соответствии с ними диагноз легионеллеза в случае с острой инфекцией нижних дыхательных путей (клинически и рентгенологически подтвержденной) считается установленным при следующих условиях:

1) выделение легионелл из отделяемого респираторного тракта или легочной ткани;

2) 4-кратное и более нарастание титра специфических антител к Legionella pneumophila в реакции непрямой иммунофлюоресценции;

3) определение специфического растворимого антигена легионелл в моче иммуноферментным или иммунохроматографическим методом.

При отсутствии сыворотки крови, взятой в ранние сроки болезни, выявление достоверно высокого уровня антител к Legionella pneumophila серогруппа 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 [1].

В таблице 2 приведена сравнительная характеристика существующих в настоящее время методов лабораторной диагностики [3, 4, 5, 6, 7]. Указанные методы имеют ряд ограничений для использования.

Несмотря на то, что бактериологическое исследование считается «золотым стандартом» при установлении этиологии заболевания, оно занимает довольно много времени и его результат зависит от ряда факторов, в числе которых важную роль играют качество отбора, хранения, транспортировки проб, качество используемых бактериологических сред.

Определение легионеллезного антигена в моче – высокочувствительный тест для определения Legionella pneumophila серогруппы 1, однако возможны перекрестные реакции с другими серогруппами. Для других видов легионелл данная методика не отработана [4]. Указанное исследование наиболее информативно при обследовании больных в период сероконверсии, в то же время длительное выявление антигена в моче ограничивает применение метода [3].

Выявление антител в крови также является достаточно доступным методом, но уступающим другим методам по чувствительности и специфичности.

ПЦР – высокочувствительный метод, однако высокая чувствительность при длительном выявлении ДНК в моче осложняет оценку лабораторных данных. Кроме того, возможно получение ложноположительных результатов [3]. ПЦР может быть использована для скрининга образцов с объектов окружающей среды, однако невозможно определение жизнеспособности бактериальных клеток. Метод является надежным и достоверным при идентификации Legionella pneumophila в смеси бактериальных культур. Нецелесообразно его применение при исследовании сыворотки и плазмы крови, мазков из ротоглотки и мочи [8]. Данный метод позволяет выявлять единичные клетки легионелл в клиническом материале [4]. В итоге, наилучшие результаты для достоверной и своевременной постановки диагноза может дать только сочетание нескольких методов диагностики.

ТАБЛИЦА 2.

Сравнительная характеристика методов диагностики легионеллеза

Методы	Цель	Применение	Образцы	Чувствительность, %	Специфичность, %	Продолжительность исследования	Недостатки
Культуральные	выделение культуры	высев на питательные среды - BCYEα агар, угольно-дрожжевой агар, легионеллобактагар	мокрота или отделяемое респираторного тракта	80-90	100	3-14 дней	длительно, эффективность зависит от качества отбора, хранения, предварительной обработки проб, качества используемых бактериологических сред, необходимость получения бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) или индуцированной мокроты
			биоптат легкого	90-99			
			кровь	10-.30			
Иммунологические	выявление антител в крови	непрямая иммунофлюоресценция:	парные сыворотки	75	95-99	6-10 нед.	используются только в качестве ретроспективной диагностики, не эффективны у людей со сниженной резистентностью
		тест-система «Legionella pneumophila, serogroup 1, Elisa IgG, IgM» (Vercell, Испания)	одиночные сыворотки	не известна	50-70		
	выявление возбудителя в клиническом материале, окружающей среде	прямая иммунофлюоресценция:	мокрота или отделяемое респираторного тракта	25-75	95-99	1 ч	необходимость проведения бронхоскопии, получения БАЛ или индуцированной мокроты
		тест-системы «Genetic Sistem Corp.» (США),					
		«Viramed» (Германия),					
		НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи РАМН	биоптат легкого	80-90	99		
	выявление растворимого антигена в моче	иммуноферментный метод:	моча	90-99	99-100	менее 1 ч	иммуноферментный метод : оценивает одновременно 80 образцов мочи, срок хранения 6 мес. Иммунохроматографические тест-системы для диагностики групповых и спорадических случаев, срок хранения 2 года. Не позволяют регистрировать случаи, вызываемые Legionella pneumophila не серогруппы 1
		тест-системы фирм «Binax» (США) и «Biotest» (Германия) ,					
		Vircell (Испания),					
		иммунохроматографический метод: тест-системы фирмы «Binax» (США)					
Молекулярно-биологические	выявление специфических нуклеотидных последовательностей	ДНК (РНК)-зонды	отделяемое респираторного тракта	50-70	95-99	2-4 ч	необходимость получения БАЛ или индуцированной мокроты, невозможно определить жизнеспособность бактериальных клеток
		ПЦР с праймерами mip гена, гена 5S или 16S рРНК: «Ампли Сенс Legionella pneumophila FRT» (ЦНИИЭ), «ДНК-технология» (США), эксперим.тест-система (ГНЦ «Вектор»)		85	99		

Лабораторная диагностика необходима также при мониторинге легионелл в потенциально опасных объектах, генерирующих аэрозоль (градирни, централизованные системы кондиционирования с водным охлаждением, джакузи, компрессорные устройства); систем горячего водоснабжения, если температура воды не превышает 50°С; медицинского оборудования и инструментария. Характеристика изолятов от больных и штаммов легионелл, выделенных из окружающей среды, позволяет определить источник инфекции и провести направленные мероприятия.

Таким образом, в настоящее время разработан целый ряд лабораторных методов диагностики легионеллеза, которые в сочетании с клиническими и эпидемиологическими данными позволяют выявлять случаи инфекции и обнаруживать легионеллы во внешней среде. Необходимо дальнейшее всестороннее научное исследование проблемы легионеллеза, внедрение диагностики и эпидемиологического надзора и контроля данной инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Эпидемиологический надзор за легионеллезной инфекцией. Методические указания МУ 3.1.2.2412-08. М., 2008.

2. Атипичные пневмонии: известные и новые возбудители /В.И. Лучшев [и др.]. Российский медицинский журнал, 2005. № 2. С. 37-43.

3. Особенности диагностики и лечения внебольничной пневмонии, вызванной Legionella pneumophila /А.Н. Антипин, С.Л. Арсенин, М.А. Прилуцкая, В.Б. Белобородов. Российские медицинские вести, 2004. Т. 9. № 2. С. 23-31.

4. Тартаковский И.С. Болезнь легионеров: итоги 25-летнего изучения инфекции, проблемы и перспективы исследования. Вестник Российской АМН, 2001. № 11. С. 11-14.

5. Тартаковский И.С. Легионеллез: роль в инфекционной патологии человека /И.С. Тартаковский, А.И. Синопальников. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2007. № 3. С. 219-232.

6. Синопальников А.И. Атипичная пневмония. Русский медицинский журнал, 2002. Т. 10. № 23. С. 1080-1085.

7. Темежникова Н.Д. Легионеллезная инфекция: эпидемиология и диагностика /Н.Д. Темежникова, А.И. Синопальников. Военно-медицинский журнал, 2007. Т. 328. № 11. С. 39-45.

8. ПЦР-диагностика при расследовании вспышки легионеллеза /Б.И. Никонов [и др.]. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2008. № 2. С. 44-46.