МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СССР

БОЛЕЗНЬ ЛЕГИОНЕРОВ

Информационно-методическое письмо

Москва — 1981

gost.e-ecolog.ru

Информационно-методическое письмо предназначено для врачей-терапевтов, инфекционистов, эпидемиологов, бактериологов, в нем излагаются результаты эпидемиологических исследований вспышек болезни легионеров, описывается клиническая картина заболевания, приводятся полученные к настоящему времени данные о биологических свойствах возбудителя, методах его выделения и диагностики.

Методическое письмо подготовлено сотрудниками Института эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР и Центрального научно-исследовательского института эпидемиологии МЗ СССР профессором С. В. Прозоровским, профессором В. И. Покровским, профессором В. И. Васильевой, кандидатом медицинских наук В. В. Малеевым, кандидатом биологических наук И. С. Тартаковским, Б. В. Ерусланов ым.

ОГЛАВЛЕНИЕ

стр.

1. Введение 5
2. Эпидемиология 5
3. Клиническая картина 7
4. Этиология 11
5. Биология возбудителя 11
6. Устойчивость возбудителя к средствам дезинфекции . . 12
7. Методы лабораторной диагностики 13
   а) выделение возбудителя от больных 14
   б) анализ клинического материала методом прямой иммунофлуоресценции 14
   в) серологическая диагностика 15
8. Лечение 17
9. Заключение 18

Приложение 20

«УТВЕРЖДАЮ»
Начальник Главного управления
карантинных инфекций МЗ СССР
24 апреля 1981 г.
В. П. Сергиев

1. ВВЕДЕНИЕ

В июле 1976 г. в г. Филадельфия (США) среди участников съезда организации «Американский легион» и членов их семей имела место вспышка тяжелого респираторного заболевания, охватившего 180 человек, с летальным исходом заболевания у 29. Широкие эпидемиологические исследования, проведенные сотрудниками Центра по контролю заболеваемости (Атланта, США), показали, что речь идет о новом инфекционном заболевании, получившем название «болезнь легионеров». Клинически заболевание протекало в виде тяжелой пневмонии с лихорадкой.

В 1977 г. Мак-Дейд и Шепард (Mc Dade с соавт., 1977) выделили из легочной ткани людей, погибших от этой болезни, неизвестный ранее микроорганизм — Legionella pneumophila (возбудитель болезни легионеров) и доказали его этиологическую роль.

В 1977—1980 гг. более 20 вспышек болезни легионеров зарегистрированы в США, Великобритании, Испании, Италии. Многочисленные спорадические случаи болезни легионеров ежегодно отмечают в США, а также в Австралии, Канаде, ЮАР, Англии, Голландии, Швеции, ФРГ и других европейских странах. Единичные случаи болезни легионеров выявлены к настоящему времени и в СССР (С. В. Прозоровский и др., 1980).

В этой связи возникла необходимость ознакомить врачей-терапевтов, инфекционистов, эпидемиологов, бактериологов с эпидемической характеристикой исследований при вспышках болезни легионеров, клинической картиной заболевания, биологическими свойствами возбудителя, методами его выделения и диагностики болезни.

2. ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

Для выявления случаев болезни легионеров среди других острых респираторных заболеваний и пневмоний в Филадельфии в 1976 г. были использованы 2 критерия:

1. Анамнестический — определявшийся участием заболевших в съезде легионеров в Филадельфии или посещением

отеля А, в котором жили участники съезда в период между 1 июля и окончанием вспышки, а также пребыванием в этот период времени на прилегающей к отелю улице Брод-Стрит (в пределах одного квартала от отеля).

2. Клинический — высокая температура, кашель, рентгенологически доказанная пневмония.

Впоследствии к этим двум критериям добавился третий — наличие 4-х и более кратной сероконверсии, выявляемой у больных методом непрямой иммунофлуоресценции.

Были выявлены и взяты на учет больные — участники конгресса легионеров и больные, которые в июле посещали отель или находились на улице вблизи этого отеля.

Эпидемиологический анализ динамики и особенностей развития вспышки заболеваний у лиц, связанных с участием в конгрессе легионеров, позволил сделать вывод о наибольшей вероятности аэрогенного пути заражения.

Это положение находило свое подтверждение в целом ряде выявленных фактов. Так, из 125 заболевших 62 (50%) останавливались в отеле А. Среди заболевших, проживавших в отеле А, не было выявлено группирования лиц в каком-либо одном номере. Вместе с тем было показано, что значительное число в последующем заболевших посетило одну из гостиных на 14-ом этаже отеля. На основании результатов опроса было выявлено, что среднее количество посещений различных гостиных в отеле А составило 2,8 для больных и 1,8 — для здоровых, 5 из 12 заболевших членов семей участников съезда также посещали гостиные отеля А. Среднее количество времени, которое провели заболевшие легионеры в вестибюле отеля А, было статистически достоверно больше того времени, которое в этом же вестибюле провели незаболевшие легионеры. Как факторы риска заболевания были выявлены отдельные дни месяца и пребывание в определенных местах отеля. Так, пребывание 23 июля в ателе А в течение 6 и более часов было связано со статистически достоверным риском заболевания. В равной мере такой риск был показан для тех, кто смотрел 23 июля парад легионеров, находясь на улице непосредственно перед отелем А.

Среди лиц, проживавших в одних и тех же гостиничных номерах с заболевшими, заболеваемость составила 8,5%. В контрольной группе среди соседей по номеру заболеваемость соответствовала 7,2%. Таким образом, возможность передачи инфекции от человека к человеку этими данными не подтверждалась.

Обращало на себя внимание и то обстоятельство, что через месяц после окончания конгресса ни один человек из

193 опрошенных, находившихся в тесном контакте с больными, не заболел болезнью легионеров, что свидетельствовало об отсутствии передачи инфекции от человека к человеку. Несмотря на проведение исследования источник инфекции оставался невыясненным. В ряде других вспышек было отмечено возникновение заболеваний в помещениях, в которых циркулировали воздушные потоки неисправных систем кондиционирования воздуха (Филадельфия, 1974, 1976; Понтиак, 1965) или находившихся с подветренной стороны от места земляных работ (Вашингтон, 1965; Бенидорм, Испания, 1973). В двух случаях (Мемфис и Блумингтон, США, 1977) возбудитель был выделен непосредственно из водоисточников, используемых для системы кондиционирования воздуха.

Большинство вспышек и спорадических случаев болезни в США приходится на летний период. Подозрение на болезнь легионеров возникает в случае прогрессирующей пневмонии, плохо поддающейся лечению пенициллином и его аналогами. Вероятность болезни легионеров возрастает у лиц среднего и пожилого возраста, курильщиков, принимающих иммунодепрессанты.

3. КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА

Для болезни легионеров характерно развитие тяжело протекающей пневмонии, при которой также поражается центральная нервная система и желудочно-кишечный тракт. Нередко в клинической симптоматике доминирует шок, дыхательная недостаточность, нарушение функции почек, геморрагические проявления.

Заболевание с большой частотой диагностируется у мужчин среднего и пожилого возраста, отмечающих в анамнезе хроническую легочную патологию (эмфизема, бронхоэктатическая болезнь, пневмосклероз), атеросклероз, гипертоническую болезнь. Курение на протяжении нескольких десятков лет, а также длительный прием иммунодепрессантов, в том числе гормональных препаратов, являются благоприятным фоном для развития болезни легионеров.

Инкубационный период чаще составляет 5—7 дней с возможными колебаниями от 2 до 10 суток. Начальными симптомами заболевания являются недомогание, боли в мышцах, головная боль, прогрессирующая слабость, легкое познабливание, повышение температуры тела. Рано появляются сухой кашель, насморк, боли в груди, усиливающиеся при кашле и глубоком дыхании, одышка. У ряда больных отмечались диспептические явления, боль в животе, рвота и жидкий

стул. Сводные материалы по симптоматике заболевания представлены в таблице 1.

Таблица 1

Симптоматика 123 случаев болезни легионеров (по материалам американских исследователей)

	В начальный период заболевания	Наличие	Отсутствие
Лихорадка	91	118(97)*	3
Общее недомогание	60	86(89)	11
Кашель	61	96(86)	16
Озноб	55	70(74)	25
Одышка	26	50(59)	35
Мышечные боли	39	47(55)	38
Головные боли	35	49(53)	44
Боли в груди	23	46(52)	42
Мокрота	20	47(50)	47
Гнойная мокрота	11	43(49)	54
Диаррея	16	41(41)	58
Рвота	10	22(23)	72
Боли в животе	6	17(20)	67

* — Процент от числа обследованных больных.

Температура тела в большинстве случаев повышается постепенно, достигая на 2—4 день болезни 39—40°С; подъем температуры сопровождается потрясающим ознобом.

В связи с высевом Legionella pneumophila из крови больных высказывается мнение, что такие ранние симптомы болезни легионеров как озноб, повышение температуры тела, головные и мышечные боли, диаррея являются неспецифическими признаками бактериемии и токсинемии.

По мере развития заболевания, обычно на 3—4 дни болезни, дыхание становится все более затрудненным, усиливается одышка, кашель. При аускультации в легких определяются участки ослабленного дыхания, крепитирующие хрипы. Отмечается относительная брадикардия, которая в дальнейшем сменяется тахикардией.

У 90% больных рентгенологически в легких в начальном периоде болезни выявляются очагово-интерстициальные изменения. Позднее отдельные инфильтраты сливаются, образуя обширные зоны затемнения. Пневмония чаще бывает лобарной или интерстициальной. Эксудация жидкости в полость плевры, как правило, незначительна.

Больные жалуются на головокружение, бессоницу, нередко развивается психоз с бредом, галлюцинациями, нарушением сознания. Развивающиеся нарушения со стороны центральной нервной системы большинство исследователей трактуют как энцефалопатию. При болезни легионеров нередко нарушена координация движения, описана продолжительная атаксия и дизартрия, вследствие поражения мозжечка.

Вместе с тем болезнь легионеров не всегда протекает тяжело. Во время вспышки в Понтиаке (США) пневмонии не наблюдались. У больных отмечалось лишь повышение температуры тела, озноб, миалгии, острый ринит. Больные не госпитализировались. Летальных исходов не было.

При исследовании периферической крови наблюдается увеличение числа лейкоцитов до $10—15 \cdot 10^3$ в 1 мкл, сдвиг лейкоцитарной формулы влево, в тяжелых случаях тромбоцитопения, лимфопения. СОЭ достигает 80 и более мм в час. Биохимические исследования позволяют выявить гипонатриемию, в тяжелых случаях азотемию, метаболический и респираторный ацидоз, гипоксию, некоторое увеличение активности аминотрансфераз, снижено содержание альбуминов. В моче у 20% больных выявляется протеинурия, у 10% — гематурия, в осадке увеличено число лейкоцитов, эритроцитов, цилиндров. В окрашенных по Граму мазках мокроты и аспирата, полученного из трахеи и бронхов, обнаруживается множество полиморфоноядерных лейкоцитов, бактерии выявляются редко.

В случаях тяжелого течения заболевания нарастает дыхательная и сердечно-сосудистая недостаточность. Смерть наступает обычно к концу первой недели болезни. В половине случаев летальному исходу предшествует развитие шока. При болезни легионеров шок, как правило, протекает с дыхательной недостаточностью, гипоксией, респираторным ацидозом и очень быстро становится необратимым. В этот период возможно развитие диссеминированного внутрисосудистого свертывания с нарушением микроциркуляции, инфарктами в легких, желудочными, кишечными, носовыми, маточными кровотечениями, кровохарканьем, гематурией. У большинства больных нарушается функция почек; нередко развивается острая почечная недостаточность, протекающая с продолжительной анурией, азотемией, требовавшими проведения гемодиализа.

В случаях благоприятного течения заболевания, начиная со второй недели, состояние больных улучшается, ремитирующая лихорадка заканчивается постепенным лизисом. В этот

период кашель становится влажным, отделяется слизистая мокрота, которая может быть с прожилками крови или примесью гноя. В период реконвалесценции длительно сохраняются слабость, головокружение, раздражительность, возможно развитие амнезии.

Улучшение рентгенологической картины в легких начинается с 10 дня болезни. Однако окончательно восстановление иногда затягивается до 8—10 недель. В единичных случаях заболевание осложняется развитием абсцесса легких и эмпиемы плевры. Болезнь легионеров может протекать атипично, без выраженной клинической картины пневмонии, что особенно часто наблюдается на фоне лечения тетрациклинами. При этом описано позднее ее развитие, вялое течение; выявить пневмонию удалось лишь при томографических исследованиях или проведении бронхоскопии.

Результаты вскрытия погибших от болезни легионеров показывают типичную картину лобарной пневмонии, в ряде случаев описывается лобулярная пневмония. Возбудитель локализуется в легких, которые содержат значительное число уплотненных некротических участков различных размеров. Часто наблюдается фибринозный плеврит. Отмечены интерстициальные некрозы легких. Возбудитель плохо прокрашивается в срезах тканей большинством известных красителей. Наилучшие результаты получены методом импрегнации серебром.

В дифференциально-диагностическом плане надо иметь в виду лобарную и интерстициальную пневмонию другой этиологии. Для болезни легионеров характерно прогрессирующее течение пневмонии, поражение центральной нервной системы, кашель с наличием необильной мокроты, умеренной лейкоцитоз периферической крови, нарушение функции почек, отрицательные результаты бактериологического исследования мокроты, отсутствие эффекта от применения пенициллина. Диагноз позволяет поставить результаты бактериологических исследований крови и плевральной жидкости на присутствие возбудителя болезни легионеров или нарастание титра антител к ним в реакции непрямой иммунофлуоресценции, микроагглютинации и др.

Особую сложность представляет дифференциальный диагноз болезни легионеров и пситтакоза, для которых характерна близость эпидемиологических и клинических особенностей. Сходство болезни легионеров с пневмоней, вызываемой Chlamydia psittaci было также подтверждено сравнением патогистологических изменений легочной ткани. Было доказано в серологических реакциях (в т. ч. и у человека) ан-

тигенное родство возбудителей, что проявлялось 4-кратным нарастанием титра антител к C. psittaci у больных болезнью легионеров. Диагностика в этих случаях особенно ответственна, т. к. несмотря на близость симптоматики каждое заболевание требует специфической, отличной друг от друга антибиотикотерапии.

4. ЭТИОЛОГИЯ

Первоначальное выделение возбудителя болезни легионеров было проведено на морских свинках. Суспензию легочной ткани людей, погибших от болезни легионеров, внутрибрюшинно вводили морским свинкам, у которых возникали лихорадочные заболевания с подъемом температуры до 39,5—41°С, простацией и поражением глаз. Длительность инкубационного периода колебалась от 12 до 48 часов. Гибель животных наступала на 3—6 день после начала заболевания.

Эксудат, полученный от морских свинок, забитых в предсмертном состоянии, содержал большое количество бактерий. Большое количество бактерий можно было обнаружить в печени и селезенке морских свинок.

Введение суспензии легких, печени, селезенки зараженных морских свинок в желточный мешок куриных эмбрионов, вызывало их гибель. Быстрее всего погибали эмбрионы, зараженные гомогенатом ткани селезенки, позже всего — зараженные гомогенатом легочной ткани. Окраска гомогената желточных мешков позволила выявить большое количество возбудителей.

В качестве питательной среды для выделения и культивирования возбудителя болезни легионеров используют агар Мюллер-Хинтона с добавлением L-цистеина и пирофосфата железа. Успешный рост наблюдается в присутствии 5% CO_2. При росте на поверхности твердой питательной среды возбудитель на 3—5 день образует характерные бактериальные колонии. При обильном росте имеет место образование коричневого пигмента, диффундирующего в агар.

Возбудитель не окрашивается по Граму и не относится к группе кислотоустойчивых. Бактерии обычно имеют длину 2—3 μк, ширину 0,3—0,4 μк. В ряде случаев можно наблюдать более длинные формы до 8—20 μк, а порой до 50 μк.

5. БИОЛОГИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ

Возбудитель болезни легионеров был выделен в самостоятельный вид Legionella pneumophila.

ДНК L. pneumophila имеет содержание ГЦ—39%, размер генома примерно равен $2{,}5 \times 10^9$ дальтон. ДНК 13 изучавшихся штаммов возбудителя на 80% и более гомологична, что указывает на принадлежность к одному виду. Попытки выявить таксономически близкий к L. pneumophila род микроорганизмов, используя гибридизацию ДНК не привели к успеху.

Значительный интерес представляет анализ липидного состава возбудителя, выращенного в стандартных условиях на агаре Мюллер-Хилтона, проведенный методом газово-жидкостной хромотографии. Среди фосфолипидов преобладал фосфатидилхолин. 99% жирных кислот имели разветвленную цепь. Фосфатидилхолин широко распространен у животных и высших растений, но редко встречается у прокариотов, причем в значительно меньших концентрациях, чем у ВБЛ. Среди грам-отрицательных бактерий жирные кислоты с разветвленными цепями обнаружены только у 2-х видов: Thermus aepiaticus и Flavobacterium.

Изучение возбудителя болезни легионеров методов электронной микроскопии выявило структуру клеточной стенки, характерную для грамотрицательных бактерий и показало, что возбудитель, выделенный из легких человека, мембраны яичного желтка и выращенный на питательной среде, идентичен по структуре. Удлиненные формы встречаются на питательной среде и в куриных эмбрионах, но не характерны для легочной ткани. В препаратах, приготовленных из куриных эмбрионов, возбудитель располагается как внеклеточно, так и внутриклеточно—в цитоплазме и представляет собой коккобациллярные тельца, окрашенные по Граму как положительно, так и отрицательно.

6. УСТОЙЧИВОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЯ К СРЕДСТВАМ ДЕЗИНФЕКЦИИ

Хотя возбудитель весьма требователен к условиям культивирования, исследования показали, что в соответствующей жидкой среде возбудитель может сохраняться в течение 112 дней при 25°С и по меньшей мере 150 дней при 4°С. Возбудитель высевался из дистиллированной воды через 2—4 месяца и через год из водопроводной воды. Следует отметить, что при вспышках и спорадических случаях болезни легионеров, возбудитель часто выделяли из различных водных резервуаров: водных систем кондиционирования воздуха рециркуляторного типа, баков с водой, воды санитарно-технического оборудования (душевых, ванн), на дезинфекцию

которых в первую очередь должно быть обращено внимание. Внутрибольничная инфекция болезни легионеров обычно имеет место в новых корпусах больниц, оснащенных системами кондиционирования воздуха. 12 человек заболевших болезнью легионеров в Кингстон госпитале (Лондон) находились в хирургическом отделении, единственном во всей больнице, оснащенном кондиционером. При гостиничных вспышках в Бенидорм (Испания) и Корби (Англия), где кондиционеры отсутствовали, накопление возбудителя имело место в головках душа.

Изучение эффективности стандартных дезинфицирующих и антисептических препаратов позволило определить их концентрации, вызывающие гибель суспензии клеток (10^6—10^7 кл/мл) в течение 1 минуты: глютаральдегид — 0,125%, формалин — 1,0%, этиловый спирт — 70%, фенол — 0,002%. 3% раствор хлорамина вызывает гибель возбудителя в суспензии при его концентрации 10^9 КОЕ за 10 минут.

Для дезинфекции водных объектов, контаминированных Legionella pneumophila, рекомендуется использовать следующие дезинфицирующие средства: гипохлорит кальция в концентрации 3,3 мг свободного хлора на литр; четвертичное соединение аммония (ЧАС) в сочетании с изопропанолом в концентрации 72 мг на литр. 2,2-дибромо-3-нитрилопропионамид менее эффективен, но также может быть использован в концентрации 24 мг на литр воды. Слабым бактерицидным действием обладают натриевые соли хлорфенолов; изотиазолин, диметилдитиокарбомат натрия.

Поскольку в настоящее время передача инфекции от человека к человеку не подтверждена ни в одной из вспышек, необходимость изоляции и санитарной обработки лиц, находившихся в контакте с больными, и медицинского персонала не представляется целесообразной.

7. МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Диагноз болезни легионеров основывается на совокупности клинических, лабораторных и эпидемиологических данных. Лабораторная диагностика включает выделение возбудителя от больных, анализ клинического материала методом прямой иммунофлуоресценции, окраску гистологических срезов и мазков, серологическую диагностику.

Реагенты, необходимые для серологической диагностики, ИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи предполагает начать выпускать в 1982 году. Отечественная питательная среда для выделения возбудителя болезни легионеров в настоящее время разрабатывается.

а) Выделение возбудителя от больных

Возбудитель редко удается выделить от больного. В качестве исследуемого материала обычно используют плевральную жидкость или кусочки легочной ткани, полученные от больного. Описаны единичные случаи выделения возбудителя из мокроты, легочного экссудата, крови.

Жидкие образцы или суспензии растертых в ступке кусочков легких высеваются на питательные среды и вводятся внутрибрюшинного морским свинкам.

Условия культивирования микроорганизма имеют ряд характерных особенностей. Микроорганизм не растет на триптиказо-соевом бульоне, тиогликолевом бульоне, кровяном агаре. Для его культивирования необходим агар Мюллер-Хинтона с добавлением солей железа и Л-цистеина. Успешный рост наблюдается в присутствии 5% CO_2. Выделение возбудителя от больных возможно как при заражении морских свинок с последующим инфицированием куриных эмбрионов, так и при непосредственном посеве материала на указанную выше питательную среду.

Следует учитывать, что культивирование возбудителя на искусственной питательной среде приводит к резкому снижению вирулентности культуры. Изучние влияния условий культивирования на вирулентность возбудителя болезни легионеров (И. С. Тартаковский и др., 1981) позволило сделать вывод, что для быстрого восстановления вирулентности оптимальным является попеременное пассирование культуры через эмбрионы и морскую свинку. Пассирование L. pneumophila только на куриных эмбрионах не вызывает резкого изменения вирулентности и позволяет сохранить ее постоянный уровень. При длительном пассировании на искусственной питательной среде физиология возбудителя, по-видимому, изменяется настолько, что возбудитель быстро гибнет попадая в организм морской свинки.

б) Анализ клинического материала методом прямой иммунофлуоресценции

Методом прямой иммунофлуоресценции удается обнаружить возбудитель в отпечатках из свежих или замороженных кусочков легких, мокроты, бронхиальных смывов или других образцов из нижних дыхательных путей. Для окраски возбудителя применяют кроличьи глобулины, меченные флуоресцирующим изотиоцинатом, соответственно шести серогрупп L. pneumophila (используют антисыворотки к штаммам Knoxvill — 1-я серогруппа, Togus — 2-я серогруппа,

Bloomington — 3-я серогруппа, Los-Angeles — 4-я серогруппа, Cambridge — 5-я серогруппа, Oxford — 6-я серогруппа.

Отпечатки или каплю исследуемого материала на предметном стекле высушивают на воздухе и фиксируют в 10% формалина 10 минут. Образцы осторожно промывают дистиллированной водой до полного устранения остатков формалина и высушивают на воздухе. На мазки наносят 1—2 капли меченого конъюгата и помещают на 20 мин в закрытую камеру для предотвращения испарения красителя. Препараты промывают фосфатным буфером (pH — 7,6) 10 мин, дистиллированной водой, высушивают, покрывают глицериновой средой и просматривают в люминесцентном микроскопе. Клетки Legionella светятся ярким желто-зеленым свечением. Метод является высокоспецифичным, хорошо сочетается с методами гистопатологической окраски. Микроорганизм окрашивается в гистологических срезах методом импрегнации серебром, по Хименесу, а также 1% толуидином голубым или 0,1% азуром II.

в) Серологическая диагностика

Наиболее широкое применение при диагностике заболевания нашел метод непрямой иммунофлуоресценции. В качестве антигена используют выращенную на питательной среде и обработанную эфиром культуру возбудителя в 1% суспензии содержимого желточных мешков куриных эмбрионов. (В работе применяют антигены шести известных к настоящему времени серогрупп L. pneumophila). Каплю антигена наносят на предметное стекло, высушивают на воздухе 30 мин, погружают в ацетон на 15 минут и вновь высушивают на воздухе. Препараты с антигеном обрабатывают сывороткой больных в разведениях от 1 : 32 до 1 : 128. Сыворотку разводят 10%-ной свежеприготовленной суспензией содержимого желточных мешков куриных эмбрионов. Стекло инкубируют 30 мин при 37°С во влажной камере, промывают фосфатным буфером (pH 7,2), дистиллированной водой и высушивают на воздухе. Препараты обрабатывают меченой изотиоционатом сывороткой против глобулинов человека, инкубируют 30 мин при 37°С, промывают фосфатным буфером (pH 7,2), дистиллированной водой, высушивают, покрывают глицериновой средой и просматривают в люминесцентном микроскопе. Титры антител определяют по интенсивности свечения образующегося иммунного комплекса по 4-х балльной шкале.

Большинство больных болезнью легионеров имеет выраженную сероконверсию с возрастанием титров антител в 4—

128 раз в сыворотках реконвалесцентов по сравнению с первой сывороткой, полученной в острый период заболевания. В случаях, когда проанализировать динамику изменения не представляется возможным, диагноз ставится по высокому уровню специфических антител (титр не менее 1 : 128). Появление специфических антител у отдельных больных может происходить уж к 6—7 дню от начала заболевания. Титры быстро возрастают на 2—3 неделе, достигая максимальных значений к 5 неделе от начала заболевания. В последующие месяцы титры уменьшаются.

Другим серологическим методом является реакция микроагглютинации, которая позволяет обнаружить нарастание титров антител к 97,2% сывороток, полученных от больных болезнью легионеров. В качестве антигена в этой реакции используют культуру возбудителя, выращенного на питательной среде и убитого горячим паром при 100°С в течение часа. Суспензия антигена в фосфатном буфере (pH 7,2) разводится фосфатным буфером (pH 6,4) до показателей оптической плотности 0,155—0,160, полученных на спектрофотометре при длине волны — 420 нм. К рабочему разведению антигена добавляют сафранин до конечной концентрации 0,005%.

Анализируемые сыворотки разводят фосфатным буфером (pH 7,2). Реакцию проводят в пластинах из полистерола с У-образными лунками диаметром 5 мм. К последовательным разведениям сыворотки — в объеме 0,025 мл (от 1 : 10 до 1 : 128) в фосфатном буфере (pH 6,4) добавляется по 0,025 мл рабочего разведения антигена, окрашенного сафранином. Пластины со смесью сыворотки и антигена встряхивают в вибраторе 20 сек, затем накрывают пустой пластиной для предохранения от высыхания и выдерживают при комнатной температуре 16 часов. По истечении указанного срока пластины помещают на 2 часа при 4°С. Положительная реакция характеризуется образованием кольца агглютинированных клеток без осадка. При отрицательной реакции образуется осадок окрашенных клеток.

Увеличение титра антител в парных образцах сывороток, взятых в острой стадии заболевания и в период реконвалесценции служит серологическим критерием при диагностике болезни легионеров. В тех случаях, когда анализ парных сывороток невозможен, в качестве точки отсчета положительной реакции принимают титр сыворотки 1 : 80. Верхний предел титра сыворотки здоровых людей обычно не превышает 1 : 20.

В стадии разработки находится метод непрямой гемагглютинации и микро-Eliza-тест, радиоиммунологический метод.

Болезнь легионеров клинически трудно дифференцировать от тяжелых пневмоний, вызываемых вирусами и микоплазмами. Поэтому методы лабораторной диагностики болезни легионеров следует применять при всех случаях тяжелых пневмоний неясной этиологии.

8. ЛЕЧЕНИЕ

Для лечения больных болезнью легионеров применяют антибиотики. В опытах in vitro возбудитель оказался высокочувствительным к рифампину, цефокситину, эритромицину, аминогликозидам, доксициклину, хлорамфениколу, ампициллину, проявлял умеренную чувствительность к тетрациклину, метициллину и был полностью резистентным к ванкомицину. В клинических условиях препараты пенициллинов и цефалоспорины практически не оказывали эффекта даже в больших дозах. Этот признак некоторые авторы считают характерным для болезни легионеров и предлагают использовать его дифферренциально-диагностических целях. Тетрациклины также оказывались недостаточно эффективными.

Наилучшие результаты достигнуты при назначении больным эритромицина. В Вермонте (США) летальность среди больных, леченных эритромицином, была в 6 раз меньше по сравнению с неполучавшими его. В тяжелых случаях эритромицин вводился парентерально в виде фосфата или аскорбината внутривенно капельно по 0,6—1,0 в сутки в изотоническом растворе натрия хлорида или 5% растворе глюкозы в концентрации не более 1 мг в 1 мл растворителя. За рубежом использовались, главным образом, глюкогептонат или лактобионат эритромицина. Хорошие результаты получены при сочетании эритромицина с рифампицином. Последний следует назначать перорально в дозе 0,15—0,3 через 6 часов.

Для коррекции гипоксии применяется оксигенотерапия. Содержание кислорода во вдыхаемом воздухе должно превышать 40%. Почти каждому четвертому больному необходима искусственная вентиляция. Противошоковые мероприятия, борьба с кровотечениями и интоксикацией проводятся общепринятыми методами. Показана низкая эффективность кортикостероидов и других гормональных препаратов.

В случаях осложнения болезни легионеров острой почечной недостаточностью показано назначение диуретиков, имеется положительный опыт проведения гемодиализа.

Летальность во время эпидемий достигала 18—20%, при ранней диагностике и назначении эритромицина она умень-

шается до 4%. При спорадических случаях болезнь легионеров приводит к летальному исходу, главным образом, на фоне сопутствующих заболеваний.

9. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время профилактика болезни не разработана. Система мер выявления и борьбы с заболеваниями, обусловленными возбудителем болезни легионеров, может быть сведена к следующим положениям:

1. Ориентировочная диагностика заболевания по клиническим признакам с учетом факторов риска (преимущественно средний и пожилой возраст больных; наличие в анамнезе терапии, связанной с применением иммунодепрессантов; связь отдельного случая со вспышкой аналогичных заболеваний в летне-осенний период года, особенно при наличии летальных исходов).

2. Ориентация на этиотропную терапию с назначением эритромицина и рифампицина.

3. Ретроспективная серологическая диагностика, основывающаяся на исследовании парных сывороток больных, полученных при поступлении больного и в период реконвалесценции (предпочтительно на 21 день от начала болезни), или высоких титров при однократном обследовании.

4. Микробиологическое исследование плевральной жидкости кусочков легочной ткани больных (метод прямой иммунофлуоресценции и высев на диагностические среды).

В настоящее время в ИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи развернута диагностическая лаборатория, которая осуществляет микробиологические и серологические исследования. В результате исследований 1979—80 гг. были изучены сыворотки 352 больных острыми пневмониями главным образом из клиник г. Москвы. Диагноз болезни легионеров был установлен в 14 случаях по нарастанию титра специфических антител методом непрямой иммунофлуоресценции, в двух случаях диагноз был подтвержден прямой иммунофлуоресценцией образцов мокроты и отпечатка из легкого. Культура возбудителя была выделена из легочной ткани 8-летнего мальчика, погибшего от острой респираторной инфекции и двухсторонней полисегментарной пневмонии при высеве на искусственную питательную среду с добавлением ванкомицина и полимиксина В, а также при заражении морской свинки с последующим инфицированием куриных эмбрионов селезеночной суспензией заболевшего животного.

Материал от больных респираторными заболеваниями неясной этиологии с подозрением на болезнь легионеров и образцы сывороток следует направлять в Институт эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР для лабораторной диагностики заболевания. Материал должен быть четко маркирован и иметь сопроводительное письмо.

Сбор и транспортировка материалов от больных и секционных случаев с подозрением на «болезнь легионеров»

Материал для микробиологических исследований

I. От больных с подозрением на «болезнь легионеров» следует направить плевральный экссудат, полученный стерильно до 7-го дня болезни в количестве от 0,5 мл до 5,0 мл, помещенный в стерильную пробирку, плотно закрытую резиновой пробкой.

II. При направлении секционного материала образцы пораженных участков легочной ткани, печени и селезенки (по 2—3 кусочка размером 1×1 см) вырезают обработанными 70% 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 в металлических боксах в возможно короткие сроки. Для кратковременного хранения материал помещают при 4°С. Длительное сохранение материала возможно лишь при температуре — 70°С.

III. Сбор сывороток.

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). После свертывания крови, сгусток отслаивают от стекла стерильной Пастеровской пипеткой и помещают на 12—16 часов при 4°С или комнатной температуре. Отделившуюся сыворотку отсасывают в стерильную пробирку или запаивают в ампулы и хранят до пересылки при 4°С.

Все материалы следует направлять по следующему адресу:

123098, Москва, Д-98, ул. Гамалеи, 18, Институт эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи. Лаборатория Л-форм, группа болезни легионеров, ст. н. с. И. С. Тартаковскому. Материал для серологического и микробиологического исследования в связи с подозрением на болезнь легионеров.

Телефон: 193-43-79 — Тартаковский И. С.

Радченко О. В.

Приложение № 2

СХЕМА СОПРОВОДИТЕЛЬНОГО ПИСЬМА К МАТЕРИАЛУ ДЛЯ СЕРОЛОГИЧЕСКОГО И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиника, больница —

Адрес —

Отделение, лечащий врач — Телефон —

№ истории болезни	Ф. И. О. больного	Возраст	Клинический диагноз	Даты				Примечания (факты риска, особенности клинической картины, патолог. анатом. диагноз
				заболевания	взятия 1 сыворотки	взятия 2 сыворотки	взятия материала для микробиолог. исследования	

Дата направления

Подпись лица, направляющего материал
(разборчиво)

Л78729 от 21/V-1981 г. Зак. 1045 Тир. 400
gost.e-ecolog.ru
Типография Министерства здравоохранения СССР