

УТВЕРЖДАЮ

УТВЕРЖДАЮ

УТВЕРЖДАЮ

Президент ГБОУ ВПО  
НижГМА  
Минздравсоцразвития  
России

Министр  
здравоохранения  
Нижегородской  
области

*И.И.* Руководитель  
Управления  
Роспотребнадзора по  
Нижегородской области

*В.В. Шкарин*  
В.В. Шкарин  
*№ 306 от 31.01.2012.*

*А.В. Карцевский*  
А.В. Карцевский

*Е.Ю. Петров*  
Е.Ю. Петров

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ НАДЗОР ЗА ЛЕГИОНЕЛЛЕЗНОЙ  
ИНФЕКЦИЕЙ В ОРГАНИЗАЦИЯХ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИХ  
МЕДИЦИНСКУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ  
(методические рекомендации)

Нижний Новгород, 2012

Методические рекомендации разработаны сотрудниками кафедры эпидемиологии и НИИ профилактической медицины (НИИ ПМ) государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Нижегородская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (ГБОУ ВПО НижГМА Минздравсоцразвития России), специалистами Управления Роспотребнадзора по Нижегородской области и Министерства здравоохранения Нижегородской области:

профессором кафедры эпидемиологии д.м.н. О.В.КОВАЛИШЕНОЙ  
доцентом кафедры эпидемиологии к.м.н. А.С.БЛАГОНРАВОВОЙ  
ассистентом кафедры эпидемиологии О.А.ЧУБУКОВОЙ  
главным эпидемиологом Министерства здравоохранения Нижегородской области  
Л.А.БАШКАТОВОЙ  
заместителем руководителя Управления Роспотребнадзора по Нижегородской области  
к.м.н. О.Н.КНЯГИНОЙ  
начальником отдела эпидемиологического надзора Управления Роспотребнадзора по  
Нижегородской области И.Н.ОКУНЬ  
заведующим Проблемной научной лабораторией микробиологии НИИ ПМ ГБОУ ВПО  
НижГМА Минздравсоцразвития России И.Ю.ШИРОКОВОЙ  
врачом Проблемной научной ПЦР-лаборатории НИИ ПМ ГБОУ ВПО НижГМА  
Минздравсоцразвития России, к.м.н. А.В.СЕРГЕЕВОЙ

**Рецензенты:**

Профессор, д.м.н. ГБОУ ВПО НижГМА Минздравсоцразвития России  
А.А.ГРИГОРЬЕВ  
Заместитель главного врача по эпидемиологическим вопросам ГБУЗ НО  
«Нижегородская областная клиническая больница им.Н.А. Семашко»  
О.М.СУТЫРИНА

Эпидемиологический надзор за легионеллезной инфекцией в организациях, осуществляющих медицинскую деятельность: методические рекомендации / А.С.Благонравова, О.В.Ковалишена, О.А.Чубукова, Л.А.Башкатова, О.Н.Княгина, И.Н.Окунь, И.Ю.Широкова, А.В.Сергеева. – Н.Новгород: Издательство Нижегородской гос. медицинской академии, 2012. – 28 с.

Методические рекомендации содержат общие сведения о легионеллезной инфекции, основные положения, подходы к организации и проведению эпидемиологического надзора в ЛПО, сравнительный анализ методов лабораторной диагностики легионеллеза; включают общие и дифференцированные параметры эпидемиологического и микробиологического мониторинга в зависимости от типа отделений медицинского учреждения, а также ряд приложений.

Настоящие методические рекомендации предназначены для эпидемиологов ЛПО, заместителей главных врачей ЛПО по эпидемиологическим вопросам, врачей клинико-диагностических лабораторий, специалистов учреждений Роспотребнадзора, органов управления здравоохранением, врачей-интернов и ординаторов по эпидемиологии.

## СОДЕРЖАНИЕ

1.	Область применения	4
2.	Нормативные ссылки и информационные материалы	4
3.	Термины и сокращения	5
4.	Общие сведения	6
5.	Предпосылки возникновения внутрибольничного легионеллеза	9
6.	Лабораторная диагностика легионеллезной инфекции	11
7.	Концентрация <i>Legionella pneumophila</i> в потенциально опасных водных объектах, превышение которой представляет эпидемическую опасность	13
8.	Параметры мониторинга легионеллезной инфекции в ООМД	13
9.	Профилактика легионеллезной инфекции	15
Приложение №1	Критерии клинической диагностики легионеллезной пневмонии	17
Приложение №2	Сравнительная характеристика методов диагностики легионеллеза	18
Приложение №3	Рекомендуемые режимы антибактериальной терапии легионеллезной пневмонии	20
Приложение №4	Диагностика легионеллезной инфекции иммунохроматографическим методом	21
Приложение №5	Выдержка из МУК 4.2.2217-07 «Выявление бактерий <i>Legionella pneumophila</i> в объектах окружающей среды: методические рекомендации»	24
Приложение №6	Критерии включения пациентов в обследование на легионеллезную инфекцию	26
Приложение №7	Объекты внешней среды, которые должны включаться в исследование на наличие легионелл	27
Приложение №8	Совершенствование эпидемиологического надзора за легионеллезом в ООМД	28

## 1. Область применения

1.1. Настоящие методические рекомендации могут быть использованы специалистами организаций здравоохранения, а также специалистами органов и учреждений Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

1.2. В настоящих методических рекомендациях определены особенности эпидемиологического надзора за легионеллезной инфекцией в лечебно-профилактических организациях.

1.3. Реализация положений методических рекомендаций направлена на совершенствование компонентов эпидемиологического надзора, улучшение выявления, диагностики, этиологической расшифровки внебольничных пневмоний, снижение уровня заболеваемости и смертности.

## 2. Нормативные ссылки и информационные материалы

- 1) Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике, пособие для врачей / А.Г.Чучалин [и др.].- М. 2010. – 106 с.
- 2) Выявление бактерий *Legionella pneumophila* в объектах окружающей среды: методические указания. – М.: МУК 4.2.2217-07, 2007. – 28с.
- 3) Заболеваемость населения России в 2009 году: Статистические материалы. Часть II / -М. – 2010.- Режим доступа к материалам: <http://www.minzdravsoc.ru/docs/mzsr/stat/34> (дата обращения: 11.09.2011).
- 4) Международная классификация болезней, травм и причин смерти X пересмотра. Электронная версия. Режим доступа к материалам: <http://www.mkb10.ru/> (дата обращения: 06.12.2011).
- 5) МУ 4.2.2039-05. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории. Утв гл. гос .сан. врачом РФ Г.Г. Онищенко 23.12.2005.
- 6) МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания.
- 7) Приказ №535 от 22.04.1985г. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений.
- 8) Профилактика легионеллеза как основа для нового направления профилактики нозокомиальных инфекций / И.С. Тартаковский [и др.] // Клин.микробиол.антимикроб.химиотер. - М.: 2010. Т – 12, №4. - С.

- 9) СанПин 2.1.3.2630-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность"
- 10) СП 3.1./3.2.1379-03 Общие требования по профилактике инфекционных и паразитарных болезней.
- 11) СП 3.1.2.2626-10 "Профилактика легионеллеза"
- 12) Федеральный закон от 30 марта 1999 года № 52-ФЗ "О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения" (с изменениями от 30 декабря 2001 г., 10 января, 30 июня 2003 г., 22 августа 2004 г., 9 мая, 31 декабря 2005 г.)

### 3. Термины и сокращения

АБП – антибактериальные препараты  
 БСМЭ – бюро судебно-медицинской экспертизы  
 ДС – дезинфицирующее средство  
 КА – коэффициент ассоциативности  
 КОЕ – колониеобразующие единицы  
 ЛПО – лечебно-профилактическая организация  
 МКБ-Х - Международная классификация болезней, травм и причин смерти X пересмотра (1992 г.)  
 МР – методические рекомендации  
 МУ – методические указания  
 НГОБ – неферментирующие грамотрицательные бактерии: *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp.  
 ООМД – организации, осуществляющие медицинскую деятельность  
 представители семейства *Enterobacteriaceae*: *E.coli*, *K.pneumoniae*, *E.agglomerans*, *E.aerogenes*, *C.freundii*  
 ПЦР – полимеразная цепная реакция.  
 ФБУЗ – Федеральное бюджетное учреждение здравоохранения  
*L.pneumophila* - *Legionella pneumophila* серогруппы 1

#### Список сокращений микроорганизмов

*Candida* spp. - грибы рода *Candida*  
 CoNS – коагулазонегативные стафилококки: *S.epidermidis*, *S.saprophyticus*, *S.xylosum*, *S.intermedius*  
*Enterobacteriaceae* - семейство *Enterobacteriaceae*  
*Enterococcus* spp. - род *Enterococcus*  
*H. influenzae* - *Haemophilus influenzae*  
*K. pneumoniae* - *Klebsiella pneumoniae*  
*L. pneumophila* - *Legionella pneumophila*  
*P. aeruginosa* - *Pseudomonas aeruginosa*  
*S. aureus* - *Staphylococcus aureus*  
*Staphylococcus* spp. - род *Staphylococcus*  
*S. pneumoniae* - *Streptococcus pneumoniae*

#### 4. Общие сведения

В последние годы проблема легионеллеза привлекает пристальное внимание различных специалистов. Это связано с тем, что каждый год растет повсеместная регистрация как спорадических случаев, так и эпидемических вспышек данного заболевания, сопровождающегося высокой летальностью. «Болезнь легионеров» относится к числу новых инфекций, сведения о которой накапливаются, начиная с 1976 года. Именно тогда произошла крупная вспышка пневмонии, унесшая 34 жизни из 4400 участников конгресса в Филадельфии. Впоследствии был выделен и охарактеризован возбудитель - *Legionella pneumophila* (семейство *Legionellaceae*).

Легионеллез – сапронозная бактериальная острая инфекционная болезнь. Механизм передачи - аэрозольный, путь - воздушно-капельный. Факторами передачи инфекции являются мелкодисперсный водный аэрозоль и вода, контаминированные легионеллами.

Возбудитель – грамотрицательная неокислотоустойчивая палочка, строгий аэроб семейства *Legionellaceae* рода *Legionella*. Данный род насчитывает более 50 видов и для 22 из них показана связь с заболеваниями человека. Более 90% клинически выраженных случаев легионеллеза вызваны видом *Legionella pneumophila*, который насчитывает 16 серогрупп.

Одной из особенностей экологии легионелл является способность образовывать биопленки в искусственных водных системах с циркуляцией теплой воды. Таким образом, активное использование водных систем, благоприятных для существования легионелл, стало приводить к тому, что у последних появилась реальная возможность колонизировать объекты окружающей среды, непосредственно соприкасающиеся с людьми. Легионеллы активно размножаются на искусственных объектах, что приводит к возрастанию концентрации бактерий. Инфицирующая доза возбудителя точно неизвестна, однако предполагают, что она невелика, поскольку известны случаи заражения после кратковременной (несколько минут) ингаляции аэрозоля, содержащего легионеллы, на довольно большом (до 6 км) расстоянии от источника инфекции. По данным ряда авторов при накоплении легионелл более 1000 КОЕ/л имеется реальная возможность заражения человека легионеллезом.

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, данных эпидемиологического анамнеза и результатов лабораторных исследований.

Клинические проявления легионеллеза неспецифичны и наблюдаются при различных заболеваниях. Они могут варьировать в широких пределах – от симптомов легкого респираторного заболевания до тяжелых полиорганных поражений. Если

лихорадке Понтиак подвержены от 80% до 100% людей, оказавшихся в зоне действия контаминированного аэрозоля, и протекает инфекция в виде острого респираторного заболевания с быстрым выздоровлением, то собственно болезнь легионеров, хотя и развивается только у 5-10% контактировавших с источником, но протекает в виде тяжелой пневмонии, зачастую с летальным исходом. Клиническая картина во многом сходна с пневмонией, вызываемой типичными возбудителями (Приложение 1).

Эпидемиологический анамнез в некоторых случаях может иметь хорошую информативность, например, при наличии данных о пребывании пациентов в отделениях трансплантации органов, онкологии, реанимации, хирургии, лечение которых сопровождалось интубацией и вентиляцией легких, прохождением курса иммуносупрессивной терапии; а также данных о посещении бассейнов и аквапарков; прохождении бальнеологических процедур; путешествии внутри страны или за рубеж, совпадающее со сроком инкубационного периода, пребывание в гостиницах и других общественных учреждениях, на круизных судах.

Однако для постановки диагноза легионеллеза, своевременной адекватной этиотропной терапии одних клинических и эпидемиологических данных недостаточно. «Золотым стандартом» лабораторной диагностики является культуральное выделение легионелл на специальных селективных питательных средах. Кроме того, в настоящее время появились более доступные методы для быстрой диагностики легионеллезной инфекции – полимеразная цепная реакция (ПЦР), иммунохроматографический и иммуноферментный методы (приложение 2).

В 1999 и в 2002 годах 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 [Legionella and the prevention of legionellosis //

World Health Organization 2007. – 252p.; Эпидемиологический надзор за легионеллезной инфекцией: методические указания. – М.: МУ 3.1.2.2412-08, 2008. – 35с.].

П. 2 и п.3 стандартов лабораторной диагностики в настоящее время распространяется только на *L.pneumophila* серогруппы 1. Для других серогрупп *L.pneumophila* результаты, получаемые по определению антител или выявлению антигена в моче, позволяют установить лишь предположительный диагноз. Выделение культуры возбудителя остается единственным методом, подтверждающим окончательный диагноз в случае инфекции, вызываемой другими серогруппами *L.pneumophila* или видами *Legionella* spp. 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.

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

Внутрибольничный легионеллез представляет собой актуальную проблему современного здравоохранения. Бактерии *Legionella pneumophila* могут вызывать при определенных условиях спорадические случаи и эпидемические вспышки заболевания, причиной которых является контаминация систем водоснабжения больницы и аспирация воды пациентами групп риска при использовании водопроводных кранов или душевых

Легионеллы способны колонизировать разнообразные объекты внешней среды в различных отделениях ЛПО, каким-либо образом связанные с водой:

1. в бальнеологических отделениях - системы водоснабжения, бальнеологическое оборудование: подводный душ-массаж, жемчужная ванна, циркулярный душ, восходящий душ, душ Шарко, бассейн и т.п.;
2. в физиотерапевтических отделениях – ингаляторы и другое оборудование для респираторной терапии;
3. в отделениях реанимации и интенсивной терапии - системы водоснабжения, оборудование для искусственной вентиляции легких, увлажнители воздуха, кондиционеры воздуха;



4. в операционных - системы водоснабжения и кондиционирования воздуха, оборудование для респираторной терапии;
5. в отделениях онкологии - системы водоснабжения и кондиционирования воздуха;
6. в отделениях трансплантологии - системы водоснабжения и кондиционирования воздуха, оборудование для респираторной терапии;
7. в стоматологических отделениях - системы водоснабжения и водоотведения стоматологических установок.

У пациентов ООМД, подвергающихся различным лечебно-диагностическим процедурам и манипуляциям на фоне сниженной иммунобиологической резистентности, при контакте с подобными объектами, колонизированными бактериями *Legionella pneumophila*, возможно развитие легионеллеза, связанного с оказанием медицинской помощи. По данным ряда авторов, удельный вес легионеллеза в отделениях тяжелой соматической патологии составляет 15-20%, а летальность достигает 30-40%. В США случаи нозокомиального легионеллеза составляют 23% от общего числа регистрируемых случаев легионеллезной инфекции с процентом летальных исходов от 9 до 100%. В Италии среди всех нозокомиальных пневмоний легионеллез составляет 7,1%, а летальные исходы при этом регистрируются в 33,3%.

## **5. Предпосылки возникновения внутрибольничного легионеллеза**

Данные двухлетнего мониторинга, охватившего 27 различных отделений 10 ЛПО, включавшего бактериологические и ПЦР исследования более 40 видов объектов внешней среды и воды, продемонстрировали присутствие *Legionella pneumophila* в ООМД Нижегородской области. Частота выделения ДНК *Legionella pneumophila* из внешней среды ЛПО составила  $11,3 \pm 0,9$  на 100 исследований: обсемененность объектов внешней среды -  $12,5 \pm 1,0$  на 100 исследований, выделение ДНК легионеллы из воды -  $3,8 \pm 1,5$  на 100 исследований ( $p=0,044$ ).

В зависимости от особенностей лечебно-диагностического процесса, категорий пациентов, данных эпидемиологического и микробиологического мониторинга, отделения ООМД относят к одному из следующих типов.

I тип - отделения высокого риска внутрибольничного инфицирования легионеллезом в силу высокой восприимчивости пациентов и проведения различных лечебно-диагностических процедур риска (искусственная вентиляция легких, увлажнение кислородно-воздушной смеси): отделения реанимации и интенсивной терапии; хирургические отделения; акушерские отделения, операционный блок и т.п.

По данным мониторинга обнаружено присутствие легионелл во всех отделениях I типа; общая обсемененность ДНК *L.pneumophila* составляет  $7,9 \pm 1,3$  на 100 исследований, наибольшая - в акушерских отделениях -  $15,2 \pm 3,1$  на 100 исследований; обсемененность

только объектов внешней среды -  $8,0 \pm 1,9$  на 100 исследований. Отмечается высокая частота выделения ДНК легионелл из горячей воды централизованного водоснабжения во всех отделениях I типа – в среднем,  $7,1 \pm 1,3$  на 100 исследований, чаще всего в воде акушерских отделений.

II тип - отделения, в которые госпитализируются пациенты с внебольничными пневмониями (следовательно, есть вероятность присутствия больного внебольничной легионеллезной пневмонией): терапевтические; пульмонологические; торакальные. Необходимо учитывать, что в ОРИТ также могут поступать больные легионеллезом, инфицированные за пределами ЛПО.

По данным мониторинга общая обсемененность ДНК *L.pneumophila* в отделениях этого типа составляет  $2,2 \pm 1,0$  на 100 исследований; обсемененность только объектов внешней среды -  $8,0 \pm 1,9$  на 100 исследований; выделение ДНК *L.pneumophila* из горячей воды централизованного водоснабжения с частотой  $4,7 \pm 1,5$  на 100 исследований.

III тип - отделения высокого риска внутрибольничного инфицирования пациентов по наличию условий, благоприятных для жизнедеятельности легионелл и реализации аспирационного механизма заражения при помощи аэрозольпродуцирующих устройств. К ним относятся отделения, где проводятся различные водные процедуры. В различных ЛПО процедуры, связанные с водой, могут располагаться как в физиотерапевтических, так и в бальнеологических отделениях в зависимости от структурно-функциональной организации ЛПО.

Обсемененность отделений III типа составляет  $14,7 \pm 1,4$  на 100 исследований; обсемененность только объектов внешней среды –  $16,4 \pm 1,6$  на 100 исследований; выделение ДНК *L.pneumophila* из воды в отделениях водолечения –  $3,8 \pm 1,4$  на 100 исследований.

В Нижегородской области существует ряд предпосылок для возникновения внутрибольничного легионеллеза.

1. Значительный уровень обсемененности различных объектов внешней среды ООМД.

Наиболее высоко контаминированы подводные души-массажи ( $25,9 \pm 7,5\%$ , положительных смывов), лечебные ванны ( $22,4 \pm 6,3\%$ ), кислородные увлажнители в акушерских отделениях ( $14,7 \pm 7,3\%$ ), краны водопроводной воды в оперблоках ( $15,8 \pm 11,8\%$ ) и акушерских отделениях ( $22,6 \pm 13,2\%$ ).

2. Присутствие *L.pneumophila* в системе горячего водоснабжения различных отделений ООМД.

Частота выделения ДНК легионелл из горячей воды централизованного водоснабжения и воды бассейнов в ЛПО в отделениях I типа – в среднем,  $7,1 \pm 1,3$  на 100 исследований, из воды отделений II типа – с меньшей частотой - в среднем  $4,7 \pm 1,5$  на 100 исследований и с самой низкой частотой – в отделениях III типа -

3,8±1,4 на 100 исследований (p=0,042). Концентрация ДНК *L.pneumophila* в воде варьирует от 1,9x10<sup>4</sup> до 4,3x10<sup>5</sup> копий ДНК/мл, что представляет эпидемиологическую опасность, особенно для пациентов ЛПО (п. 7).

3. Возможность длительной циркуляции бактерий *L.pneumophila* в условиях ООМД - установлено многократное (от 2 до 5 раз) выделение ДНК легионеллы в динамике с одних и тех же объектов (включая жемчужные ванны, подводные души-массажи, бассейны, увлажнители, водопроводные краны).
4. Наличие отделений высокого риска циркуляции легионелл, объектов риска - резервуары *L.pneumophila* в стационарах, условий для циркуляции легионелл.
5. Несоответствие температуры горячей воды требованиям нормативных документов (в соответствии с нормативными требованиями для профилактики легионеллеза температура горячей воды должна быть не ниже 65°C).

Температура горячей воды часто не соответствует рекомендуемой и находится, в среднем, на уровне +45°C; в 50% случаев не достигает +60°C, причем преимущественно в отделениях I и II типа.

Кроме того, необходимо отметить факторы, предрасполагающие к возможности формирования резервуаров и циркуляции легионелл:

- изношенные водопроводные системы, коррозия труб;
- протяженный водопровод;
- наличие «застойных зон» в трубопроводе вследствие перепланировочных ремонтных работ;
- нарушения дезинфекционного режима в ООМД.

## **6. Лабораторная диагностика легионеллезной инфекции**

Лабораторная диагностика необходима при мониторинге легионелл в потенциально опасных объектах. Характеристика изолятов бактерий, полученных от больных и штаммов легионелл, выделенных из окружающей среды, позволяет определить источник инфекции и провести направленные мероприятия.

В существующих нормативных документах (СанПиН 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность», СП 3.1.2.2626-10 «Профилактика легионеллеза», МУ 3.1.2.2412-08 «Эпидемиологический контроль за легионеллезной инфекцией» регламентируется частота и точки отбора проб объектов внешней среды ЛПО для мониторинга легионелл (таблица 3).

## Объекты и кратность микробиологического обследования на легионеллы

Название документа	Объекты исследования	Кратность микробиологического обследования
МУ 3.1.2.2412-08 "Эпидемиологический контроль за легионеллезной инфекцией"	системы охлаждения воды промышленных предприятий, бассейны, аквапарки, джакузи общественного пользования (в т.ч. В ЛПО)	ежеквартально
	системы горячего и холодного водоснабжения, централизованные системы кондиционирования и увлажнения воздуха (кондиционирующие установки небольшой мощности без увлажнения воздуха и сплит-системы контролю на легионеллы не подлежат) общественных зданий, торговых центров, ресторанов, клубов, учреждений, гостиниц, пассажирских судов,	2 раза в год
СП 3.1.2.2626-10 Профилактика легионеллеза	системы охлаждения воды промышленных предприятий (градирни и испарительные конденсаторы)	ежеквартально (в случае перерыва в эксплуатации при полном или частичном сохранении воды - перед запуском к работе)
	бассейны, аквапарки, джакузи общественного пользования (в т.ч. в ЛПО), сауны, фитнес и спа-центры, демонстрационные джакузи в торговых и выставочных центрах и др.	
	централизованные системы кондиционирования и увлажнения воздуха общественных зданий, торговых центров, ресторанов, клубов, учреждений, гостиниц, пассажирских судов, поездов	2 раза в год (в случае перерыва в эксплуатации при полном или частичном сохранении воды - перед запуском к работе)
	системы горячего и холодного водоснабжения	
	ЛПО: температура горячей воды на точках выхода и поддержание ее на уровне 65°C и выше	постоянно следить за поддержанием температуры
	ЛПО: при снижении температуры горячей воды до 55°C и ниже на точках выхода	ежемесячно контроль на наличие <i>L.pneumophila</i> и <i>Legionella spp.</i> до момента восстановления температуры до 65°C
	отделения ЛПО групп риска (отделения, где применяется иммуносупрессивная терапия, трансплантология, онкологии, хирургия, интенсивная терапия, реанимация, ожоговые отделения, перинатальная и неонатальная патология и др.). Учреждения социального обслуживания граждан пожилого возраста и инвалидов.	ежеквартально, в случае выявления легионелл после проведения профилактических мероприятий - ежемесячно. Контроль содержащего воду оборудования, инструментария, растворов для интубации, вентиляции легких и других процедур; бутилированной воды, используемой пациентами

Название документа	Объекты исследования	Кратность микробиологического обследования
	фонтаны уличные и внутренние, технологические циклы с использованием циркуляции и аэрозолирования воды, аварийные души на производстве, поливальные установки и др.	При необходимости. Частота определяется температурой воды (25 – 50 <sup>0</sup> С), длительностью циркуляции в замкнутом режиме, сроками хранения застойной воды, обнаружением биопленок
Сан ПиН 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность»	системы водоснабжения, централизованные системы кондиционирования и увлажнения воздуха (кроме систем без увлажнения и сплит-систем). В отделениях (палатах) для иммуно-компрометированных пациентов (трансплантологии, онкогематологии, ожоговых и т.п.) при температуре горячей воды в точках разбора <60 <sup>0</sup> С рекомендуется применять дополнительные средства защиты (спец. фильтры)	2 раза в год

### 7. Концентрация *Legionella pneumophila* в потенциально опасных водных объектах, превышение которых представляет эпидемическую опасность [8]

В странах ЕЭС, США, Японии введены допустимые концентрации *Legionella pneumophila* для различного типа водных систем и объектов. Например, допускается эксплуатация при концентрации возбудителя не превышающей:

- 10<sup>4</sup> КОЕ/л - для градирен промышленных предприятий и централизованных систем кондиционирования в общественных зданиях;
- 10<sup>3</sup> КОЕ/л - для системы горячего водоснабжения;
- 10<sup>2</sup> КОЕ/л – для джакузи и аквапарков;
- 20 КОЕ/л – для горячего водоснабжения в отделениях групп риска ЛПО и домах социального обеспечения (для контингентов групп риска необходимо исключить возможность контакта с водой, содержащей не только *Legionella pneumophila*, но и *Legionella spp.*

### 8. Параметры мониторинга легионеллезной инфекции в ООМД

Мониторинг легионеллезной инфекции необходимо проводить в отделениях ООМД, где существует возможность инфицирования пациентов, вследствие тяжести

состояния и проведения различных предрасполагающих к заражению лечебно-диагностических процедур. Кроме того, следует проводить обследование на легионеллез в отделениях, в которые госпитализируются пациенты с пневмониями, а также где имеются условия для колонизации (таблица 4, Приложение 8).

Таблица 4

Параметры мониторинга легионеллезной инфекции в ООМД

Тип отделения	Характеристика отделения	Параметры мониторинга
<b>Отделения I типа</b>		
Реанимационные Хирургические Акушерские Операционные блоки и т.п.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Высокий риск инфицирования</li> <li>- Пациенты риска возникновения внутрибольничного легионеллеза в силу высокой восприимчивости</li> <li>- Лечебно-диагностические процедуры риска</li> <li>- Высокая обсемененность объектов внешней среды, наличие резервуаров легионелл</li> <li>- Частое выделение ДНК <i>L.pneumophila</i> из горячей воды централизованного водоснабжения</li> <li>- Температура горячей воды, в среднем +45°C</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Выявление случаев внутрибольничного легионеллеза – <u>постоянно</u></li> <li>Обследование пациентов на легионеллез при наличии признаков пневмонии – <u>по клинико-эпидемиологическим показаниям</u> (Приложение 6)</li> <li>- Выявление случаев внебольничного легионеллеза у пациентов, поступающих в отделения реанимации и интенсивной терапии – <u>постоянно</u></li> <li>Обследование пациентов на легионеллез при наличии признаков пневмонии – <u>по клинико-эпидемиологическим показаниям</u> (Приложение 6)</li> <li>- Обследование объектов внешней среды (Приложение 7) на обсемененность <i>L.pneumophila</i> – <u>ежеквартально</u> В случае выявления легионелл – <u>ежемесячно</u></li> <li>- Выявление <i>L.pneumophila</i> в воде централизованного водоснабжения – <u>ежеквартально</u> При снижении температуры горячей воды до +55°C и ниже в точках выхода – <u>ежемесячно</u> до момента восстановления <math>t</math> до 65°C В случае перерыва в эксплуатации, при полном или частичном отключении воды – <u>перед запуском к работе</u></li> <li>- Слежение за температурным режимом воды - <u>постоянно</u></li> </ul>
<b>Отделения II типа</b>		
Терапевтические Ппульмонологические Торакальные и т.п.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Вероятность поступления пациентов с легионеллезом (внебольничная пневмония)</li> <li>- Незначительная обсемененность легионеллами объектов внешней среды</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Этиологическая расшифровка всех внебольничных пневмоний – <u>постоянно</u></li> <li>- Обследование пациентов, поступающих с внебольничной пневмонией, на легионеллез – <u>по клинико-эпидемиологическим показаниям</u> (Приложение 6)</li> <li>- Обследование объектов внешней</li> </ul>

Тип отделения	Характеристика отделения	Параметры мониторинга
	<p>- Частое выделение ДНК <i>L.pneumophila</i> из горячей воды централизованного водоснабжения</p> <p>- Температура горячей воды, в среднем +40°C</p>	<p>среды на обсемененность <i>L.pneumophila</i> – <u>по показаниям</u> (Приложение 7)</p> <p>- Выявление <i>L.pneumophila</i> в воде централизованного водоснабжения – <u>ежеквартально</u></p> <p>При снижении температуры горячей воды до +55<sup>0</sup>С и ниже в точках выхода – <u>ежемесячно</u> до момента восстановления t до 65<sup>0</sup>С</p> <p>В случае перерыва в эксплуатации, при полном или частичном отключении воды – <u>перед запуском к работе</u></p> <p>- Слежение за температурным режимом воды - <u>постоянно</u></p>
<b>Отделения III типа</b>		
<p>Физиотерапевтические Бальнеологические Отделения водолечения и т.п.</p>	<p>- Имеется высокий риск инфицирования пациентов по наличию условий, благоприятных для жизнедеятельности легионелл и реализации аспирационного механизма заражения от аэрозоль-продуцирующих устройств</p> <p>- Процедуры риска</p> <p>- Высокая обсемененность объектов внешней среды, наличие резервуаров легионелл</p> <p>- Редкое выделение ДНК <i>L.pneumophila</i> из горячей воды централизованного водоснабжения</p> <p>- Температура горячей воды, в среднем +60°C</p>	<p>- Обследование на легионеллез пациентов других отделений, проходивших водолечение, при наличии признаков пневмонии – <u>по клинико-эпидемиологическим показаниям</u> (Приложение 6)</p> <p>- Обследование объектов внешней среды (Приложение 7) на обсемененность <i>L.pneumophila</i> – <u>ежеквартально</u></p> <p>В случае выявления легионелл – <u>ежемесячно</u></p> <p>- Выявление <i>L.pneumophila</i> в воде централизованного водоснабжения – <u>ежеквартально</u></p> <p>При снижении температуры горячей воды до +55<sup>0</sup>С и ниже в точках выхода – <u>ежемесячно</u> до момента восстановления t до 65<sup>0</sup>С</p> <p>В случае перерыва в эксплуатации, при полном или частичном отключении воды – <u>перед запуском к работе</u></p> <p>- Слежение за температурным режимом воды - <u>постоянно</u></p>

## 9. Профилактика легионеллезной инфекции

1. Мероприятия по улучшению качества воды централизованного водоснабжения:
  - поддержание температуры воды в местах разбора в пределах менее 20°C и более 50°C;
  - соблюдение дезинфекционного режима, его усиление при необходимости (шоковое гиперхлорирование, ионизация воды с помощью ионов серебра и меди, ультрафиолетовое облучение, озонирование и пр.);

- использование специальных материалов для трубопроводов и ёмкостей для накопления воды, уменьшение коррозии и осадков в трубах;
- 2. Профилактические мероприятия в ЛПО:
  - устранение застоя воды в «мертвых зонах» водопровода при протяженности труб 20-50 км и наличии конструктивных концов труб, или образование таких «зон» при перепланировке и ремонте помещений;
  - использование разрешенных к применению специальных сменных бактериальных фильтров с диаметром пор не более 0,2  $\mu\text{m}$ , полностью исключающих контакт пациента с контаминированной легионеллами водой, на точках выхода системы водоснабжения (краны, душевые установки). Требуется регулярная замена фильтра в зависимости от модели;
  - использование стерильной или профильтрованной воды для промывания медицинской аппаратуры, применяемой в отделениях I типа;
  - направленная усиленная дезинфекционная обработка объектов внешней среды (см. Приложение 7)



## 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-лактамы 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 холододового агглютинаина (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.

\* Birkin, C. Legionella pneumonia presenting with bilateral flank pain, hyponatraemia and acute renal failure/ C.Birkin, C.S., Biyani, A.J. Browning// Can. Urol. Assoc. J.-2011.-№5(6).-P.96-100

## Сравнительная характеристика методов диагностики легионеллеза

Методы	Цель	Применение	Образцы	Чувствительность, %	Специфичность, %	Продолжительность исследования	Недостатки
Культуральные	выделение культуры	высев на питательные среды - BCYE $\alpha$ 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 БАЛ или индуцированной мокроты
			биоптат легкого	90-99			
			кровь	10-30			
Иммунологические	выявление антител в крови	непрямая иммунофлюоресценция: тест-система "Legionella pneumophila, serogroup 1, ELISA IgG, IgM" (Vercell, Испания)	парные сыворотки	75	95-99	6-10 нед	используются только в качестве ретроспективной диагностики, не эффективны у людей со сниженной резистентностью
			одиночные сыворотки	неизвестна	50-70		
	выявление возбудителя в клиническом материале, окружающей среде	прямая иммунофлюоресценция: тест-системы "Genetic Sistem Corp." (США), "Viramed" (Германия), ИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи РАМН	мокрота или отделяемое респираторного тракта	25-75	95-99	1 ч	необходимость проведения бронхоскопии, получения БАЛ или индуцированной мокроты
			биоптат легкого	80-90	99		

Методы	Цель	Применение	Образцы	Чувствительность, %	Специфичность, %	Продолжительность исследования	Недостатки
	выявление растворимого антигена в моче	иммуноферментный метод: тест-системы фирм "Binax" (США) и "Biotest" (Германия), Vircell (Испания), иммунохроматографический метод: тест-системы фирмы "Binax" (США)	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
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 mpr гена, гена 5S или 16S рРНК		85	99		

## Рекомендуемые режимы антибактериальной терапии легионеллезной пневмонии\*

Антибиотик	Дозировка
Макролиды	
эритромицин	500 мг каждые 6 часов перорально 500-1000 мг каждые 6 часов внутривенно <sup>1</sup>
азитромицин	500 мг каждые 24 часа <sup>2</sup>
klarитромицин	500 мг каждые 12 часов <sup>2</sup>
Тетрациклины	
доксциклин	100 мг каждые 12 ч или 200 мг каждые 24 часа <sup>2</sup>
тетрациклин	500 мг каждые 6 часов
Фторхинолоны	
левофлоксацин <sup>3</sup>	500 мг каждые 24 часа <sup>2</sup>
моксифлоксацин <sup>3</sup>	400 мг каждые 24 часа <sup>2</sup>
ципрофлоксацин	500-750 мг каждые 12 часов внутрь 400 мг внутривенно каждые 8-12 часов <sup>4</sup>
Другие препараты	
рифампицин	600 мг каждые 12 часов <sup>2</sup>

*Примечание:*

<sup>1</sup> предпочтительнее назначение азитромицина или кларитромицина, в дозе 2 г в сутки может вызывать ототоксический эффект, устранимый при отмене или снижении дозы препарата

<sup>2</sup> внутривенно или перорально

<sup>3</sup> рекомендуется в особо тяжелых случаях, преимущественно у пациентов с выраженным иммунодефицитом

<sup>4</sup> дозировка может быть повышена до 400 мг каждые 8 часов у пациентов, находящихся на искусственной вентиляции легких

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.

\* Практические рекомендации по диагностике и лечению легионеллезной инфекции, вызываемой *Legionella pneumophila* серогруппы 1: пособие для врачей / Чучалин А.Г. [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - 2009. – Т.11, №1. – С.4-13.

## 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* серогруппа 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 минут 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:

1. Набор реагентов для диагностики легионеллезной инфекции «Бинакс» (США). 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 хранятся при комнатной температуре (15-30°C) не более 24 часов после получения перед постановкой реакции. В случае необходимости образцы могут храниться при температуре 2-8°C до 14 дней или при -20°C 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°C 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 минут и интерпретируются по наличию или отсутствию визуально различимых окрашенных линий от розового до пурпурного цвета (приложение).

Положительный результат включает выявление двух окрашенных линий в зоне чтения результата тестирования пациента, так 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 слабо розового до белого в течение 15 минут после постановки и не должен мешать чтению результата теста.

### **Интерпретация**

**результатов**

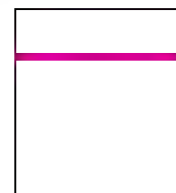
#### **Отрицательный**

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.

**результат**

Контроль

Образец

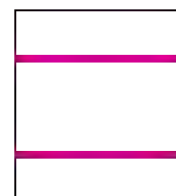


**Положительный результат**

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.

Контроль

Образец



**Недействительный результат**

Нет линий

Линия только в зоне чтения результата образца

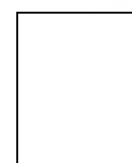
В случае отсутствия видимых линий или при наличии одной видимой линии в зоне чтения результата образца результат теста считается недействительным.

#### **Обработка результатов**

Рекомендуемое заключение по результату

Контроль

Образец



Контроль

ИЛИ

Образец



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

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  $\beta$ -лактамовых антибиотиков.

\* Практические рекомендации по диагностике и лечению легионеллезной инфекции, вызываемой *Legionella pneumophila* серогруппы 1: пособие для врачей / Чучалин А.Г. [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - 2009. – Т.11, №1. – С.4-13.

**Выдержка из МУК 4.2.2217-07 «Выявление бактерий Legionella pneumophila в объектах окружающей среды: методические рекомендации»**

Для выделения легионелл используют стандартную среду – буферный угольно-дрожжевой агар (БУДРАГ, ВСУЕα) с ростовой и селективной добавкой. Среды промышленного изготовления готовятся в соответствии с прописями на этикетке или в соответствии с инструкцией изготовителя.

Допускается применение сред лабораторного приготовления.

Отбор проб осуществляют в соответствии с требованиями ГОСТ Р 51592-2000 «Вода. Общие требования к отбору проб» и ГОСТ Р 51593-2000 «Вода питьевая. Отбор проб»; МУК 4.2.1018-01 «Методические указания по санитарно-микробиологическому анализу питьевой воды»; МУК 4.2.1884-04 «Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов».

Пробы воды объемом 0,5-1,0 литр для микробиологического анализа на наличие легионелл отбирают в стерильные емкости. Для отбора проб воды используют специально предназначенную для этих целей одноразовую посуду или емкости многократного применения, изготовленные из материалов, не влияющих на жизнедеятельность микроорганизмов.

Емкости должны быть оснащены плотно закрывающимися пробками (силиконовыми, резиновыми или из других материалов) и защитным колпачком (из алюминиевой фольги, плотной бумаги), или завинчивающимися крышками с резиновыми уплотнителями. Многократная посуда, в том числе пробки, должна выдерживать стерилизацию сухим жаром или автоклавированием.

С целью дехлорирования воды в стерильные флаконы емкостью 500 мл вносят 2 мл 1,5 % раствора гипосульфита натрия, простерилизованного в автоклаве, или для забора используют емкости, содержащие кристаллы гипосульфита натрия из расчета 20 мг на 1 л воды.

Поверхностные пробы отбирают специальным батометром, предназначенным для этих целей. Глубинные пробы отбирают специальным батометром, предназначенным для этих целей. Допустимо использовать другие приспособления, установленные в приложении к ГОСТ Р 51592-2000.

Забор материала осуществляют стерильно, избегая соприкосновения пробки и края емкости с любыми поверхностями. После наполнения емкость закрывают стерильной пробкой, обеспечивающей герметичность и не намокающей при транспортировке (ватные пробки не применять), и стерильным колпачком.

Смывы с объектов (оборудования для кондиционирования и вентиляции, водонагревательных и охладительных систем, медицинского инструментария и т.д.) берут тампоном (свабом), смоченным стерильным физиологическим раствором и помещают в пробирку со стерильным физиологическим раствором.

С учетом способности легионелл к образованию биопленок на поверхности водопроводного, промышленного, лабораторного и иного оборудования, связанного с циркуляцией и хранением воды, соответствующие участки поверхности также могут исследоваться на наличие легионелл. Соскобы влажных биопленок с поверхности, находящейся под водой или на границе соприкосновения воды и воздуха, берут сухими тампонами и помещают во флакон или пробирку. Соскобы биопленок с высохшей поверхности берут тампонами, смоченными стерильным физиологическим раствором и помещают в пробирку, содержащую стерильный физиологический раствор.

Отбор проб производит специалист после прохождения инструктажа по технике выполнения отбора проб для микробиологического анализа.

Отобранную пробу маркируют и сопровождают документом отбора проб воды с указанием места, времени забора, фамилии специалиста, отбравшего пробу, и другой информации (температуры воды, погодных условий).

Доставку проб воды осуществляют в контейнерах при температуре 6-24°C. При соблюдении указанной температуры транспортировки и хранения срок начала исследований от момента отбора проб не должен превышать 48 часов. Хранение проб в



холодильнике при температуре ниже 6 °С может привести к негативным результатам исследования проб в связи с возможным переходом легионелл в некультивируемое состояние. (Hussong D. et al. 1987) Если проба содержит дезинфектанты, и их нейтрализация не проведена сразу же после отбора, анализ проводят в течение 4 часов после забора.

#### **Идентификация *Legionella pneumophila***

Легионеллы не ферментируют углеводы, разжижают желатин, не образуют уреазу, не восстанавливают нитраты, положительны в пробе на каталазу, переменны в пробе на оксидазу. Отсутствие способности к ферментации углеводов у бактерий *Legionella spp.* не позволяет быстро и достоверно провести идентификацию легионелл до вида на основе биохимических тестов. Для быстрой идентификации бактерий *Legionella pneumophila* используют латекс-агглютинацию с моновалентными и групповыми сыворотками и метод флуоресцирующий антител (МФА). В случае необходимости принадлежность выделенной культуры к виду *Legionella pneumophila* определяют с помощью полимеразной цепной реакции с видоспецифичными праймерами.

Окончательную идентификацию легионелл до вида и серовара проводят в национальной референс-лаборатории по легионеллезу (ГУ НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи РАМН, Москва).

#### **Оформление и выдача результатов**

Ответ о выявлении в исследуемой пробе легионелл представляют следующим образом:

- Если легионеллы не выявлены в исследуемой пробе: *Legionella pneumophila* не обнаружена.
- При выявлении *Legionella spp.*: в исследуемой пробе выявлены *Legionella spp.*; *Legionella pneumophila* не обнаружена.
- При выявлении *Legionella pneumophila*: в исследуемой пробе выявлена *Legionella pneumophila* в установленном количестве бактерий (геномных копий) на литр.
- При исследовании пробы биопленки: в исследуемой пробе выявлена *Legionella spp.* или *Legionella pneumophila*.

**Критерии включения пациентов в обследование на легионеллезную инфекцию**

1. Эпидемиологический анамнез:
  - посещение бассейнов и аквапарков
  - прохождение бальнеологических процедур
  - путешествие внутри страны или за рубеж, совпадающее со сроком инкубационного периода
  - пребывание в гостиницах и других общественных учреждениях, на круизных судах.
2. Факторы риска:
  - табакокурение
  - алкоголизм
  - иммунодефицитные состояния
  - сопутствующие заболевания (сахарный диабет, сердечно-сосудистые заболевания, перитонит, панкреатит, абсцессы мозга, целлюлит, миокардит и др.)
  - лечение в отделениях трансплантации органов, онкологии, реанимации, хирургии
  - терапия которых сопровождается интубацией и вентиляцией легких
  - прохождение курса иммуносупрессивной терапии
3. Группы риска:
  - возраст – люди старше 40 лет (для внебольничного легионеллеза) и старше 25 лет (для нозокомиального легионеллеза)
  - профессиональная деятельность – работники, связанные с обслуживанием градирен, систем кондиционирования и других искусственных водных систем
  - лица, получающие иммуносупрессивную терапию, перенесшие трансплантацию органов, больные, принимающие кортикостероиды, находящиеся на искусственном дыхании, аспирации и парентеральном питании
  - территория риска - повсеместно
4. Сезон года: летние-осенние месяцы
5. Клинико-лабораторные показатели:
  - гипонатриемия
  - повышение уровней креатинкиназы и АСТ
  - тяжелое клиническое течение пневмонии
  - отсутствие эффекта от лечения  $\beta$ -лактамами антибиотиками

**Объекты внешней среды, которые должны включаться в исследование на наличие легионелл**

1. системы промышленного охлаждения:
  - градирни
  - испарительные конденсаторы
2. системы кондиционирования воздуха с водным охлаждением (климатизации)
3. системы горячего и холодного водоснабжения жилых и промышленных зданий
4. системы водоснабжения морских и речных судов
5. плавательные бассейны и вихревые ванны (джакузи) массового пользования в аквапарках и спортивно-оздоровительных центрах
6. увлажнители воздуха
7. фонтаны
8. в отделениях ООМД:
  - бальнеологические отделения: системы водоснабжения, полный спектр бальнеологического оборудования: подводный душ-массаж, жемчужная ванна, циркулярный душ, восходящий душ, душ Шарко, бассейн и т.п.;
  - физиотерапевтические отделения: ингаляторы, аэрозоль-продуцирующие устройства;
  - отделения реанимации и интенсивной терапии: системы водоснабжения, оборудование для респираторной терапии, увлажнители воздуха, кондиционеры воздуха (с водным охлаждением);
  - операционные, оперблоки: системы водоснабжения, кондиционирования воздуха (с водным охлаждением), оборудование для респираторной терапии;
  - отделения онкологии: системы водоснабжения, кондиционирования воздуха (с водным охлаждением);
  - отделения трансплантологии: системы водоснабжения, кондиционирования воздуха (с водным охлаждением), оборудование для респираторной терапии.

Совершенствование эпидемиологического надзора за легионеллезом в ООМД

