Экология, распространение легионелл и патогенность

Введение

легионелла биохимический патогенез

Легионеллёз - это группа заболеваний бактериальной этиологии, клинически проявляющаяся литоксикацией, респираторным синдромом, поражением ЦНС и почек.

В июле 1976 г. в Филадельфии одновременно с проходившем здесь съездом Американского легиона разыгралась вспышка неизвестной болезни. Она напоминала грипп: высокая температура, головная боль, кашель, характерные хрипы в легких. Болезнь протекала тяжело, лекарства оказывались бессильными, и многих спасти не удалось. Больше года ушло на выявление возбудителя. Им оказался микроорганизм, получивший название - Leg. pn.

. Морфология и культуральные свойства



Рис. Полиморфные тонкие палочки с заостренными концами, по Граму окрашиваются отрицательно.

*Легионеллез* - острое респираторное заболевание, для которого характерны общая интоксикация, лихорадка и развитие тяжелой пневмонии.

Известны более 40 видов легионелл, для 22 из них доказана роль в инфекционной патологии человека. Все они относятся к семейству Legionellaceae, роду Legionella. Основной возбудитель - Legionella pneumophila (в более 90 % случаев), Его название связано с первыми жертвами вызванного им заболевания среди участников конгресса «Американский легион», проходившего в Филадельфии летом 1976 г. В 1977 г. возбудитель был выделен из легких погибших Д. Мак-Дейдом и С. Шапардом. Остальные встречаются значительно реже и вызывают заболевания при нарушении клеточного иммунитета, например L.micdadei, L.dumoffii и другие.

Легионеллы - полиморфные, грамотрицательные, подвижные палочки с заостренными концами. Их длина обычно 2-3 мкм, но иногда достигает 20 мкм. Аэробы. Растут на специальных средах, содержащих ростовые добавки - L-цистеин и растворимый пирофосфат железа. Оптимальная температура - 35°С, в атмосфере 2,5-3% СО2 в течение 3-6 сут. В качестве источника энергии используют не углеводы, а аминокислоты. Размножаются только на сложных питательных средах (буферно-угольный дрожжевой агар) с обязательным добавлением цистеина, пирофосфата железа и кетоглутаровой кислоты в связи с потребностями в этих веществах. Выросшие на питательной среде колонии имеют вросший центр с образованием коричневого пигмента, за исключением вида L. micdadei. Могут быть культивированы в желточном мешке куриного эмбриона и культурах клеток, в организме морской свинки.

Легионеллы имеют сложный антигенный состав, поэтому определение вида с помощью серологических методов затруднено. Вид L.pneumophiia включает 16 серогрупп, из которых чаще всего вызывают заболевание группы - 1 -я (80% случаев) и 5-я - (10% случаев).

Легионеллез является сапронозной инфекцией. Легионеллы широко распространены в естественных водоемах, в системах кондиционирования и замкнутых системах охлаждения промышленных объектов. Они способны длительно выживать в воде (в водопроводной воде-около года). Легионеллы вступают в симбиоз с амебами II сине-зелеными водорослями, которые поддерживают их размножение.

Заражение людей легионеллезом происходит чаще всего при вдыхании капелек инфицированной воды и бактериального аэрозоля из кондиционеров, душевых установок и т п. Заражение от больных людей не доказано. Чаще болеют мужчины среднего и пожилого возраста. Заболеванию способстует курение, злоупотребление алкоголем, диабет, применение иммунодепрессантов и другие неблагоприятные воздействия, снижающие резистентность организма.

2.Биохимические свойства

Каталазоположительны. Не ферментируют углеводы, не продуцируют уреазу, не восстанавливают нитраты. Некоторые виды разжижают желатин. L. pneumophila от других видов легионелл отличается способностью гидролизовать гиппурат натрия.

.Эпидемиология

В природных условиях легионеллы обитают в пресноводных водоемах, где они являются симбионтами сине-зеленых водорослей, водных и почвенных амеб и других простейших. Высокие адаптационные способности легионелл позволяют им успешно колонизировать искусственные водоемы, системы водоснабжения и кондиционирования воздуха, медицинскую аппаратуру. На синтетических и резиновых поверхностях водопроводного, промышленного и медицинского оборудования легионеллы образуют биопленку, в составе которой они становятся более устойчивыми к действию дезинфицирующих веществ.

Механизм передачи легионеллезной инфекции аспирационный. Основной фактор передачи - мелкодисперсный аэрозоль, содержащий легионеллы, образуемый бытовыми, медицинскими или промышленными водными системами. От человека к человеку заболевание не передается. Болезнь распространена повсеместно, в том числе и в России. Пик заболеваемости приходится на летние месяцы. Предрасполагающим фактором является иммунодефи-цитное состояние.

4.Факторы патогенности

*Факторы адгезии* - поверхностные структуры клеточной стенки, способные прикрепляться к макрофагам, например:

белок mip M, участвует как в адгезии на поверхности макрофагов, так и в проникновении в них;

главный белок внешней мембраны - видоспеиифический порин, обладает иммуногенностью;

главный белок ЦПМ, является родоспецифическим антигеном.

*Ферменты патогенности, некоторые их них выполняют антифагоцитарные функции:*

- цитолизин (Zn металлопротеаза) обладает протеолитической, гемолитической и токсической активностью, нарушает фагоцитоз;

фосфолипаза С гидролизует фосфотидилхолин и ингибирует отдельные функции нейтрофилов, связанные с их бактерицидной активностью;

легиолизин обладает гемолитической активностью;

каталаза - инактивирует образующиеся в процессе фагоцитоза токсические продукты (Н2О2, и др.);

фосфатазы, липазы, нуклеазы и др. ферменты.

*Токсические вещества:*

- ТС-токсин (термостабильный пептид) - нарушает процесс фагоцитоза нейтрофилов, обладает цитотоксическим действием на культуры клеток;

ТЛ-токсин (термолабильный цитотоксин) - ингибирует «кислородный взрыв» в фагоцитах, участвует в общей интоксикаиии организма и в развитии легочных поражений.

Эндотоксин (ЛПС) - проявляет обычные свойства эндотоксина грамотрицательных бактерий и вызывает лихорадку, гипотонию, гипогликемию, нарушение кровоснабжения органов и ацидоз.

Легионеллы являются факультативными внутриклеточными паразитами, вызывают незавершенный фагоцитоз, препятствуя с помощью своих ферментов и токсинов слиянию фагосомы с лизосомой внутри фагоцита и ингибируя «кислородный взрыв».

. Патогенез

Инкубационный период продолжается от 2 до 10 дней. Входными воротами инфекции являются нижние отделы респираторного тракта - альвеолы и конечные бронхиолы. Легионеллы с помощью адгезинов прикрепляются и проникают внутрь альвеолярных макрофагов, где возбудители размножаются и частично погибают, высвобождая большое количество токсических веществ, которые в свою очередь вызывают гибель инфицированных макрофагов. Освободившиеся легионеллы инфицируют соседние альвеолярные макрофаги, происходит дальнейшее распространение инфекции.

Эти процессы приводят к накоплению токсинов и других факторов патогенности. Возникает характерный для начального периода синдром общей интоксикации организма, а также развивается местный воспалительный процесс в легких. В развитии воспалительного процесса принимают участие инфицированные альвеолярные макрофаги, которые выделяют цитокины, усиливающие воспалительную реакцию.

Вовлекаются межальвеолярные пространства, паренхима легких, может захватываться плевра. Бронхи обычно не поражены. В легочной ткани образуются воспалительные инфильтраты, содержащие макрофаги, заполненные легионеллами, нейтрофилы и большое количество фибрина. Часто заболевание принимает тяжелое течение. Развивается очаговая сливная пневмония, нередко захватывающая всю долю легкого, имеются также интерстициальные изменения. Очаговые инфильтраты нередко некротизируются, могут образовываться гнойные очаги - абсцессы легкого. Мокрота проибретает гнойный характер.

В разгаре болезни легионеллы проникают в кровь. При их распаде высвобождается эндотоксин, который вызывает поражение ряда органов и систем (сердечно-сосудистой и нервной систем, желудочно-кишечного тракта, почек). Может развиться инфекционно-токсический шок с неблагоприятными последствиями.

Легионеллез не всегда сопровождается развитием пневмонии. Различают 3 клинические формы:

.Легионеллезная пневмония (болезнь легионеров) - наиболее тяжелая форма, дающая около 15 % летальности;

. Лихорадка Понтиак - гриппоподобное заболевание, сопровождается менее выраженной интоксикацией, иногда плевритом, бронхитом;

. Лихорадка Форт Брегг - протекает с интоксикацией и высыпаниями на коже, длительность - 2-7 дней.

. Клинические проявления

Известны три клинические формы легионеллеза: болезнь легионеров (филадельфийская лихорадка) и лихорадка Понтиак, лихорадка Форт-Брагг.

Инкубационный период при болезни легионеров 2-10 суток. Заболевание сопровождается лихорадкой, ознобом, болями в груди, одышкой. В 20-30% случаев развивается острая дыхательная недостаточность. Могут развиться инфекционно-токсический шок, почечная недостаточность, поражение центральной нервной системы. Летальность 8-25%, у больных с иммунодефицитом 60%.

Лихорадка Понтиак представляет собой острое респираторное заболевание без пневмонии. Инкубационный период 36-48 ч. Заболевание характеризуется 1-2-дневной лихорадкой, катаральными явлениями в носоглотке, сухим кашлем. Летальные исходы не регистрируются. Болезнь поражает 95-100% лиц, находящихся в зоне распространения аэрозоля.

Лихорадка Форт-Браг - острое лихорадочное заболевание с экзантемой. Риск возникновения внутрибольничного легионеллеза связан с возможностью контаминации легионеллами систем водоснабжения, кондиционирования воздуха и медицинского оборудования, а также наличием лиц, чувствительных к инфекции, с нарушением клеточного иммунитета. Помимо L. pneumophila, внутрибольничную инфекцию нижних дыхательных путей вызывает L. micdadei.

. Особенности иммунитета

Иммунитет при легионеллезе изучен недостаточно. Специфические антитела появляются в сыворотке крови к концу 1-й недели заболевания, титр повышается на 2-3-й неделе и достигает максимума на 4-5-й неделе с последующим снижением. Повторные заболевания и рецидивы не известны, возможно иммунитет пожизненный.

. Лабораторная диагностика

Диагноз устанавливается с помощью метода прямой иммунофлюоресценции, бактериологическим и серологическим методами, применяют полимеразную цепную реакцию.

Исследуемые материалы: бронхо-альвеолярные аспираты, мокрота, плевральная жидкость, аутопсийный материал, моча, кровь.

*Прямая иммунофлюоресценция* - информативный и чувствительный тест. Используют для быстрого обнаружения легионелл в исследуемых материалах. Для этой цели из них готовят мазки или мазки-отпечатки, фиксируют формалином, промывают. Наносят специфический поливалентный люминесцирующий иммуноглобулин (кроличьи глобулины против семи серогрупп легионелл, меченные ФИТЦ), затем препарат промывают (чтобы отмыть несвязавшиеся антитела) и просматривают в люминесцентном микроскопе. В положительном случае клетки легионелл светятся ярким желто-зеленым свечением. Легионеллы часто обнаруживают в материалах бронхоскопии, биопсии, плевральном экссудате, очень редко - в мокроте.

*Бактериологическое исследование*. Исследуемые материалы засевают на чашки Петри со специальными средами, содержащими L-цистеин и пирофосфат железа - буферный угольно-дрожжевой агар и др. Посевы инкубируют во влажной атмосфере в присутствии 3-5% СО2 при 35°С в течение 2-14 суток (чаще 3-5 дней). Колонии легионелл на средах могут образовывать коричевый пигмент, диффундирующий в\_агарг^

Мазки из колоний, окрашенные по Граму, содержат грамотрицательные палочки с заостренными концами. Подозрительные колонии засевают на две чашки со специальными средами с цистеином и без цистеина. Легионеллы, за исключением L.oakridgensis, не растут на средах без цистеина. Чистую культуру легионелл выделяют из колоний, выросших в присутствии цистеина и проверенных методом прямой иммунофлюоресценции (должно наблюдаться свечение).

Идентификацию выделенной культуры проводят по комплексу признаков: морфологических, культуральных, биохимических, определяют принадлежность к серогруппе.

*Серологический метод* применяют для обнаружения специфических антигенов или антител в клинических материалах от больного. Антигены выделяют в начале заболевания в реакциях лзтексагтлютинации, методами ИФА, РИА, МИФ. Наилучшие результаты дает выявления легионеллезных антигенов в моче с помощью ИФА.

В конце заболевания (ретроспективная диагностика) определяют нарастание титра антител (сероконверсия) в парных сыворотках: повышение титра антител не менее, чем в 4 раза во второй сыворотке по сравнению с первой свидельствует о перенесенной легионеллезной инфекции.

При невозможности проследить динамику антителообразования диагноз ставят по высокому титру антител (не ниже 1:128). Специфические антитела выявляют методом непрямой иммунофлюоресценции: готовят мазки из инактивированной культуры легионелл (известный антиген), мазки обрабатывают испытуемой сывороткой больного в возрастающих разведениях, промывают и затем наносят люминесцирующий иммуноглобулин против глобулинов человека, опять промывают. При положительном результате наблюдается желто-зеленое свечение антигенов (иммунных комплексов) в люминесцентном микроскопе.

. Профилактика и лечение

В качестве этиотропного лечения используют антибиотики, способные к внутриклеточной пенетрации и аккумуляции: макролиды (эритромицин, кларитромицин, азитромицин) - антимикробный эффект обусловлен нарушением синтеза белка на рибосомах микробной клетки. Как правило, макролиды оказывают бактериостатическое действие, но в высоких концентрациях способны действовать бактерицидно на БГСА, пневмококк, возбудителей коклюша и дифтерии. Макролиды проявляют ПАЭ в отношении грамположительных кокков. Кроме антибактериального действия макролиды обладают иммуномодулирующей и умеренной противовоспалительной активностью.

Фторхинолоны - оказывают бактерицидный эффект. Ингибируя два жизненно важных фермента микробной клетки - ДНК-гиразу и топоизомеразу IV, нарушают синтез ДНК.

Профилактика. Методы специфической профилактики не разработаны. Неспецифическая профилактика сводится к периодической очистке водных систем, выявлению водного резервуара возбудителя и его оздоровлению. Показана дезинтоксикационная терапия (гемодез, реополиглюкин, сывороточный альбумин, аскорбиновая кислота), вдыхание увлажненного кислорода через носовой катетер, бронхорасширяющие и отхаркивающие средства (эуфиллин, солутан, бромгексин, терпингидрат и др.). Глюкокортикоидные препараты используют при развернутой клинической картине инфекционно-токсического шока, осложненного острой дыхательной недостаточностью. При неотложных состояниях проводят весь комплекс интенсивных реанимационных мероприятий в палатах интенсивной терапии или реанимации.

. Распространенность заболевания

Легионеллёз относится к инфекционным заболеваниям, распространённым повсеместно. На распространённость инфекции влияют природно-климатические условия, а также антропогенный фактор. Это связано с тем, что легионеллёз, как говорилось выше, может являться техногенной инфекцией. На сегодняшний день большее количество случаев легионеллёза обнаруживается в США и странах Европы. По-видимому, это связано с лучшей развитостью диагностики (большое значение это имеет, в частности, в случае понтиакской лихорадки), а также с возможностью проведения ретроспективных исследований.

Общий уровень заболеваемости легионеллёзом во всем мире невелик, однако ежегодно в разных странах отмечаются спорадические вспышки и десятки эпидемических вспышек.

Наблюдениями доказано, что частота заболеваемости легионеллёзом у путешественников несколько выше, чем у людей, не меняющих своего местонахождения. Это связывают со сменой климатических условий (и, следовательно, изменением резистентности организма), а также с использованием различных технических транспортных средств, которые могут служить средой для размножения возбудителя. Например, в США среди всех заболевших легионеллёзом в 2005-2006 годах 23-25 % пришлось на долю путешественников. Многочисленные эпидемические вспышки в гостиницах послужили поводом для создания единой международной системы эпидемиологического надзора за случаями легионеллёза, связанного с поездками.

За период с 2002 по 2006 год в Италии, Испании и Франции наблюдался 641 случай легионеллёза среди путешественников.Как правило, это были групповые заболевания. Был проведён анализ того, где останавливались путешественники: оказалось, что в 83 % всех случаев заражения они останавливались в отелях, в 10 % в кемпингах, а в 7 % случаев находились на пассажирских судах. Необходимо подчеркнуть, что эта пропорция характерна для каждой из трех стран. По всей видимости, кондиционеры, устанавливаемые в автомобилях, не так опасны с точки зрения распространения легионеллёзной инфекции.

Наблюдаемый рост заболеваемости легионеллёзом в странах Европы, по-видимому, не связан с истинным увеличением заболеваемости, а вызван улучшением качества диагностики пневмоний и других инфекционных поражений дыхательного тракта.

В России в 2003 и в 2004 годах зафиксировано 18 случаев легионеллёза. В 2005 году всего описано 26 случаев легионеллёза в России, из них 4 - у детей от 6 до 14 лет. В 2004 году по 7 случаев легионеллёза отмечалось в Воронежской области и Санкт-Петербурге. В 2005 году из всех зарегистрированных случаев заболевания 3 отмечалось в Воронежской области, 12 случаев - в Санкт-Петербурге, по 2 в Ставропольском крае и Волгоградской области, 7 случаев в Мордовии. Вспышка легионеллезной пневмонии была зафиксирована на Среднем Урале в июле 2007 года в Верхней Пышме. Инфекция попала в квартиры через систему горячего водоснабжения из-за нарушения требований по промывке труб и сливу воды. В больницах оказались более 160 горожан, 5 человек скончались.

Список используемой литературы

1) Учебное пособие «Возбудители бактериальных воздушно-капельных инфекций».

) Медицинская микробиологи, вирусология и иммунология под редакцией академика РАМН В. В. Зверева, профессора М. Н. Бойченко.

) Лысак В. В. микробиология.

)Борисов Л.В. Микробиология