

УДК: 616.9:579.84]-036.88(571.620)

ЗАВОЗНОЙ СЛУЧАЙ ЛЕГИОНЕЛЛЕЗА С ЛЕТАЛЬНЫМ ИСХОДОМ В ХАБАРОВСКОМ КРАЕ

Л.Г. Гриднева¹, Л.Ф. Гуляко¹, Л.И. Иванов¹, Н.Б. Белозерова¹,
Т.В. Громова¹, Т.Н. Каравянская²

¹ФКУЗ «Хабаровская противочумная станция» Роспотребнадзора, Хабаровск

²Управление Роспотребнадзора по Хабаровскому краю, Хабаровск

Заболевший в Таиланде мужчина въехал в Россию на пятый день от начала болезни и, несмотря на госпитализацию и интенсивное лечение, умер от двухсторонней атипичной пневмонии на восьмой день болезни. *Legionella pneumophila* была обнаружена в качестве этиологической причины пневмонии путем бактериологического, серологического, ПЦР и масс-спектрометрического исследования образцов патологоанатомического материала.

Ключевые слова: легионеллез, завозной случай, пневмонии, лабораторная диагностика

IMPORTED CASES OF LEGIONELLOSIS WITH LETHAL OUTCOME IN KHABAROVSK KRAI

Gridneva L.G.¹, Gulyako L.F.¹, Ivanov L.I.¹, Belozerova N.B.¹,
Gromova T.V.¹, Karavyanskaya T.N.²

¹Khabarovsk Plague Control Station of Federal service on customer's rights protection and human well-being surveillance of Khabarovsk Region, Khabarovsk, Russian Federation

²Administration of Federal service on customer's rights protection and human well-being surveillance of Khabarovsk Region, Khabarovsk, Russian Federation

A patient who got sick in Thailand, arrived to Russia on the fifth day from disease onset, despite hospitalization and intensive treatment he died from bilateral atypical pneumonia 3 days later. *Legionella pneumophila* was revealed as the etiological causes of pneumonia by bacteriological, serological, PCR and mass spectrometric studies of post-mortem samples.

Key words: *legionellosis, imported cases, pneumonia, laboratory diagnosis*

Внебольничные пневмонии относятся к наиболее частым заболеваниям человека и являются одной из ведущих причин смерти от инфекционных заболеваний [3]. Появление в последние десятилетия новых особо опасных респираторных инфекций, способных обусловить чрезвычайные ситуации в случае завоза на территорию России, требует особого внимания к этиологической расшифровке пневмоний с летальным исходом и проведения мониторинга за тяжелыми формами пневмоний.

Хабаровская противочумная станция приступила к этиологическому мониторингу внебольничных пневмоний с середины 2003 года, когда постановлением Минздрава России за №2510/6226-03-27 была включена в группу учреждений, предназначенных для проведения ПЦР-исследований на тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС) в Дальневосточном регионе.

Целью данной работы было установление этиологической причины летальной атипичной пневмонии у прибывшего из-за границы больного для выявления возможного инфицирования возбудителями ТОРС, ближневосточного респираторного синдрома коронавируса (БВРС-КоВ) и гриппа птиц либо для лабораторного обоснования альтернативного диагноза.

Материалы и методы

Алгоритм исследования клинического материала при внебольничных пневмониях определялся разработанным на станции Регламентом, в основу которого положен принцип комплексного исследования материала от больных с подозрением на ТОРС. Целью комплексного исследования при отрицательном тестировании на ТОРС было установление альтернативного лабораторного диагноза. В зависимости от прогноза эпидемиологической ситуации в регионе Регламент ежегодно подвергается корректировке и, в настоящее время, предусматривает проведение комплексного тестирования материала на 15 инфекционных агентов бактериальной и вирусной природы.

В начале сентября 2014 года в лабораторию станции поступили пробы патологоанатомического материала от больного К. 51 года, госпитализированного 01.09.2014 в городскую больницу №2 города Комсомольска-на-Амуре с диагнозом: внебольничная двухсторонняя пневмония, тяжелое течение.

Со слов больного первые симптомы респираторной инфекции появились с 24 августа в период его пребывания на отдыхе в г. Паттая, Таиланд. Появилась высокая температура, сухой кашель. За медицинской помощью не обращался, продолжал посещать экскурсии, купался в море и в бассейне отеля, в котором проживал. В гостинице, торговых центрах, предприятиях общественного питания имелись кондиционеры для охлаждения воздуха.

В Комсомольск-на-Амуре вернулся 28.08.2014 и 29.08.2014 обратился на станцию скорой медицинской помощи г. Комсомольска-на-Амуре. Установлен диагноз ОРВИ, назначено симптоматическое лечение. Повторный вызов врача скорой помощи зарегистрирован 01.09.2014, в 15 час. 35 мин. Больной в тяжелом состоянии был госпитализирован в отделение реанимации КГБУЗ «Городская больница № 2» Министерства здравоохранения Хабаровского края. При поступлении в стационар больной предъявлял жалобы на повышение температуры тела до 39°C, выраженную одышку, кашель. В стационаре состояние больного, несмотря на проводимое интенсивное лечение, продолжало ухудшаться и 02.09.14 в 3 часа 45 мин. зафиксирована смерть. На аутопсии от 03.09.14 установлен патологоанатомический диагноз: двусторонняя крупозная пневмония.

Данные эпиданамнеза (пребывание в странах Юго-Восточной Азии), тяжесть клинических проявлений респираторного синдрома, приведших к смертельному исходу, послужили основанием для направления аутопсийного материала на Хабаровскую противочумную станцию для исследования на коронавирусную инфекцию.

Согласно Регламенту исследование нативного материала (бронхи, легкие) проводили с помощью ПЦР на наличие РНК коронавирусов (тест-система АмплиСенс *Co-Bat-FL*), вирусов гриппа (тест-системы ЦНИИ эпидемиологии «АмплиСенс *Influenza A/B - FL*», «АмплиСенс *Influenza A – тип - FL*», «АмплиСенс *Influenza A/H1swine - FL*», «АмплиСенс *Influenza A/H5N1 - FL*») и ДНК бактериальных патогенов («АмплиСенс *Legionella pneumophila-FL*», «АмплиСенс *Mycoplasma pneumoniae/Chlamydophila pneumoniae -FL*», «АмплиСенс *Neisseria meningitides/H.influenza/S.pneumoniae-FL*», «АмплиСенс *MRSA-скрин-титр- FL*», «АмплиСенс *Pseudomonas aeruginosa-FL*» и тест-системы ООО «Изоген» для детекции ДНК *Kl. pneumoniae*, *Chl. psittaci*).

Бактериологическое исследование материала проводили в соответствии с МУК 4.2.3115-13 «Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний» и МУК 4.2.2217-07 «Методические указания по выявлению бактерий *Legionella pneumophila* в объектах окружающей среды» с использованием отечественных питательных сред (кровяного агара, туляремийного агара, среды ГРМ) и среды БУДРАГ (BCYEА, Oxoid), которая является референтной питательной средой для легионелл.

Для индикации и идентификации микроорганизмов, выросших на среде БУДРАГ, использован метод времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-ToF MS). Образцы для масс-спектрометрии были подготовлены путем экстракции белков суточных культур с использованием трифторуксусной кислоты согласно методическим рекомендациям МР 4.2.0089-14. Идентификация проведена в ручном режиме на масс-спектрометре MALDI-ToF системы microflex с использованием референсных библиотек базы данных MALDI Bioityper 3.0. Таксономическую принадлежность микроорганизмов определяли на основании значения индекса совпадения (score value, SV) масс-спектров с референтными масс-спектрами базы данных, принимая во внимание, что значение $SV \geq 2,3$ соответствует высокому уровню видовой идентификации, а в диапазоне 2,000-2,299 – надежной родовой и возможной видовой идентификации.

Результаты и обсуждение

Результатом исследований в ПЦР нативного материала стало выявление ДНК *Legionella pneumophila* в образцах бронхов и легочной ткани.

На 3-4 сутки на среде БУДРАГ был отмечен рост колоний, которые в последующем по морфологическим, тинкториальным, биохимическим тестам, по положительной реакции агглютинации с легионеллезной сывороткой 1 серогруппы (*Legionella* Latex Test, Oxoid) по выявлению ДНК *Legionella pneumophila* при тестировании культуры в ПЦР были идентифицированы как *Legionella pneumophila* 1-ой серогруппы.

При идентификации колоний с угольно-дрожжевого агара (среда БУДРАГ) методом MALDI-ToF MS при сравнении исходных спектров от 11 колоний, морфологически сходных с легионеллами, установлена их таксономическая принадлежность к *Legionella pneumophila*. Индекс совпадения белковых профилей исследованной культуры с данными базы MALDI Bioityper 3.0 составил 2,327, что свидетельствует о достоверной идентификации до видового уровня.

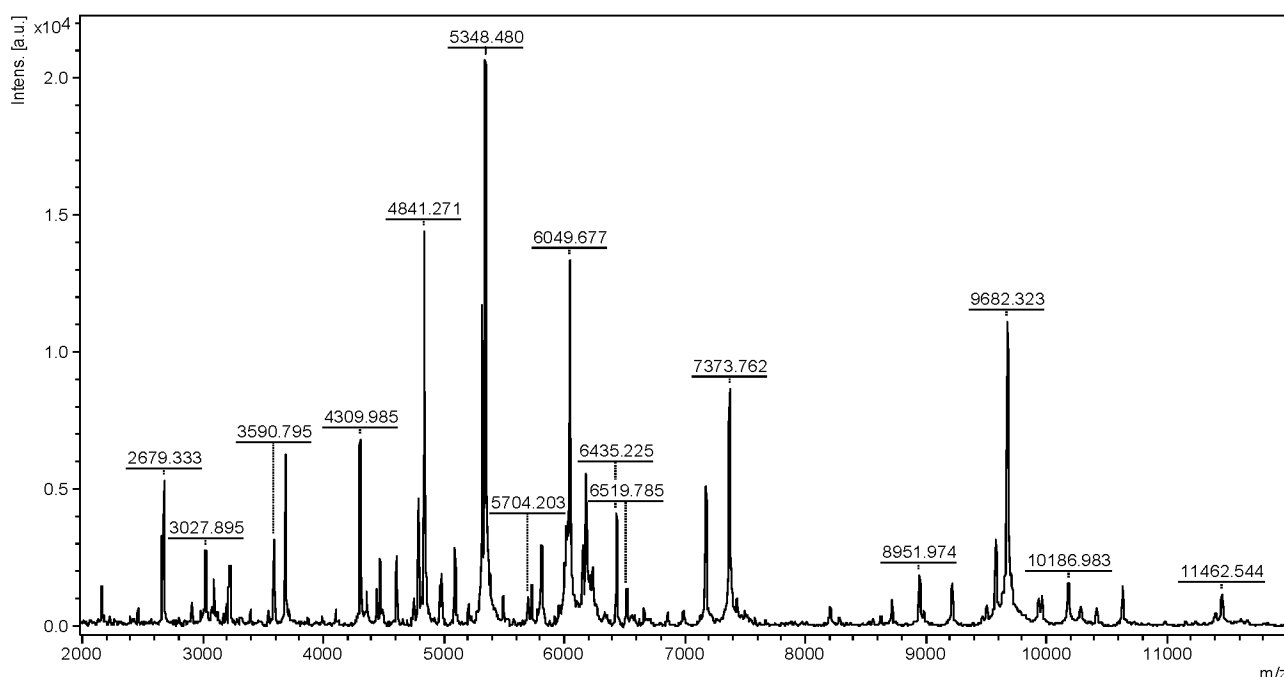


Рис.1. Масс-спектр культуры, выделенной из легочной ткани больного К. (идентифицирована как *Legionella pneumophila*).

По разным данным легионеллез может составлять 14-20% в этиологической структуре всех пневмоний во всех возрастных группах. Однако в Российской Федерации регистрируется ежегодно 10-30 случаев легионеллеза, что, вероятней всего, объясняется низким уровнем лабораторной диагностики. Особые трудности вызывает диагностика спорадических случаев легионеллезной инфекции, что вследствие отсутствия специфических клинических и рентгенологических признаков приводит к лечению таких больных стандартными препаратами, к которым легионеллы не чувствительны, что приводит к неблагоприятному исходу [2].

Заключение

С применением современных методов диагностики проведено комплексное исследование секционного материала от больного, умершего от пневмонии с отягощенным эпиданамнезом. Использование бактериологического, серологического, генодиагностического и метода времяпролетной

масс-спектрометрии (MALDI-ToF MS) показало эффективность такого подхода для установления этиологического диагноза тяжелых форм пневмоний, которые зачастую являются индикатором особо опасных респираторных синдромов, получивших распространение в последние десятилетия (ТОРС, MERS, птичий грипп и др.), а также для диагностики редко встречающихся атипичных пневмоний. Созданный и апробированный на Хабаровской ПЧС спектр диагностических тестов позволил выявить ДНК *Legionella pneumophila* в образцах легочной ткани больного, умершего от пневмонии, а также изолировать и идентифицировать культуру возбудителя атипичной пневмонии.

Разработанный и апробированный на Хабаровской противочумной станции Регламент, определяющий алгоритм исследования и оптимальный спектр диагностических тестов к возбудителям бактериальной и вирусной природы позволил установить этиологическую природу тяжелой атипичной пневмонии с летальным исходом.

Завозной случай легионеллеза с тяжелым течением пневмонии и летальным исходом при постмортальной этиологической диагностике болезни свидетельствует о реальности заноса особо опасных инфекционных заболеваний на территорию страны с больными людьми, еще раз указывает на важность правильного сбора эпиданамнеза, раннего забора материала для комплексной этиологической расшифровки тяжелых форм респираторной инфекции, особенно встречающихся редко, и своевременной коррекции лечения.

Литература

1. Тартаковский И.С. Современные подходы к диагностике атипичных пневмоний КМАХ-2000.-Т.2.-№1.
2. Чучалин А.Г., Цой А.Н., Архипов В.В. Диагностика и лечение пневмоний с позиции медицины доказательств //Consilium medicum. 2002 - Т.4, №12. – С.620
3. Чучалин А.Г. Белая книга //Пульмонология. – 2004. – №1. – С.7-34.
4. Методические указания «Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний». – МУК 4.2.3115-13. – М. – 2013.
5. Методические указания по выявлению бактерий *Legionella pneumophila* в объектах окружающей среды. – МУК 4.2.2217-07. - М., 2007.

Сведения об авторах

Гриднева Людмила Григорьевна – врач-бактериолог ФКУЗ «Хабаровская противочумная станция» Роспотребнадзора, e-mail: chum@chum.khv.ru)

Гуляко Лариса Федоровна – врач-бактериолог ФКУЗ «Хабаровская противочумная станция» Роспотребнадзора, e-mail: chum@chum.khv.ru)

Иванов Леонид Иванович – врач-вирусолог ФКУЗ «Хабаровская противочумная станция» Роспотребнадзора, e-mail: chum@chum.khv.ru)