

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего
образования «Российский университет дружбы народов
имени Патриса Лумумбы»

Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

На правах рукописи

Моисеева Александра Юрьевна

**КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ КОМПЛЕКСНОЙ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ
ДИАГНОСТИКИ И НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК У
ОПЕРИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИОННЫМ
ЭНДОКАРДИТОМ**

3.1.20. Кардиология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

член-корреспондент РАН,

доктор медицинских наук, профессор

Кобалава Жанна Давидовна

Москва – 2023

Оглавление

Введение.....	5
1 Обзор литературы.....	14
1.1 Характеристика инфекционного эндокардита у оперированных пациентов: клинико-демографические особенности, показания, виды оперативного лечения.....	14
1.2 Методы этиологической диагностики ИЭ у оперированных пациентов.....	22
1.2.1 Микробиологическое исследование венозной крови и тканей иссеченных клапанов сердца.....	22
1.2.2 Молекулярно-биологическое исследование венозной крови и тканей иссеченных клапанов сердца.....	23
1.2.3 Патогистологическое исследование тканей иссеченных клапанов.....	25
1.2.4 Структура возбудителей ИЭ у оперированных пациентов.....	26
1.3 Роль нейтрофильных внеклеточных ловушек при ИЭ.....	31
2 Материалы и методы исследования.....	35
2.1 Клинико-демографическая характеристика оперированных пациентов с ИЭ, группы оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ и группы сепсиса, включенных в исследование.....	35
2.2 Оценка лабораторных показателей.....	43
2.3 Оценка показаний к хирургическому лечению ИЭ и пациентов с пороками сердца без ИЭ.....	44
2.4 Оценка осложнений в послеоперационном периоде у пациентов с ИЭ.....	45
2.5 Антибактериальная терапия у оперированных пациентов с ИЭ.....	47

2.6 Этиологическая диагностика параллельными микробиологическим и ПЦР-исследованием крови и тканей иссеченных клапанов	48
2.6.1 Микробиологическое исследование крови	49
2.6.2 Микробиологическое исследование тканей иссеченных клапанов.....	50
2.6.3 Молекулярно-биологическое исследование крови (ПЦР-исследование и секвенирование).....	50
2.6.4 Молекулярно-биологическое исследование тканей иссеченных клапанов (ПЦР-исследование и секвенирование).....	52
2.6.5 Патогистологическое исследование тканей иссеченных клапанов.....	52
2.7 Исследование нейтрофильных внеклеточных ловушек в крови.....	52
2.8 Эхокардиографическое исследование.....	53
2.9 Оценка исходов у пациентов с ИЭ.....	54
2.10 Перспективы исследования.....	55
2.11 Статистический анализ результатов исследования.....	55
3 Результаты исследования.....	58
3.1 Этиологическая структура возбудителей ИЭ по данным микробиологических методов исследования.....	58
3.2 Этиологическая структура возбудителей ИЭ по данным молекулярно-биологических исследований.....	63
3.3 Сравнение результатов этиологических исследований у оперированных пациентов с ИЭ (микробиологическое и молекулярно-биологическое исследование)	65
3.4 Результаты этиологических исследований у оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ (микробиологическое и молекулярно-биологическое исследование крови и клапанов).....	73

3.5	Определение чувствительности и специфичности изучаемых методов этиологической диагностики.....	75
3.5.1	Анализ чувствительности изучаемых методов в зависимости от локализации вегетаций и возбудителя у оперированных пациентов с ИЭ.....	78
3.5.2	Влияние антибактериальной терапии на чувствительность методов этиологической диагностики у оперированных пациентов с ИЭ.....	79
3.6	Прогностическая ценность наличия и количества нейтрофильных внеклеточных ловушек в крови у оперированных пациентов с ИЭ.....	82
3.6.1	Уровень нейтрофильных внеклеточных ловушек у оперированных пациентов с ИЭ в зависимости от клинικο-демографических характеристик, локализации ИЭ, возбудителей и осложнений.....	82
3.6.2	Сравнение уровня нейтрофильных внеклеточных ловушек при поступлении и в динамике у пациентов с ИЭ, оперированных пациентов без ИЭ и группой сепсиса.....	87
3.6.3	Анализ прогностического значения нейтрофильных внеклеточных ловушек у оперированных пациентов с ИЭ.....	88
3.6.4	Анализ уровня нейтрофильных внеклеточных ловушек у пациентов с сепсисом.....	101
4	Обсуждение полученных результатов.....	104
	Выводы.....	116
	Практические рекомендации.....	117
	Благодарности.....	118
	Список сокращений.....	119
	Список литературы.....	121

Введение

Актуальность проблемы

Современный инфекционный эндокардит (ИЭ) по-прежнему характеризуется высокой заболеваемостью – 1,5-11,6 на 100 тыс. человек [39, 52, 152] и летальностью 16-33% [12, 22, 52, 73, 82].

Хирургическое лечение ИЭ требуется почти в половине случаев [26, 72, 73, 163]. Дальнейшая идентификация возбудителя из резецированных тканей клапана проводится патогистологическими и этиологическими методами, при этом выявление возбудителя из вегетаций пораженных клапанов сердца считается патологическим критерием достоверного ИЭ [72]. Однако было показано, что микробиологические исследования (МБИ) резецированных интраоперационно тканей клапана имеют низкую чувствительность и специфичность, с частотой положительных результатов всего в 6-26% случаев ИЭ [97, 122, 124]. Ранее было показано преимущество полимеразной цепной реакции (ПЦР-исследования) по сравнению с МБИ в крови и тканях у пациентов с ИЭ [9, 37, 62, 75, 94, 137], при этом исследования, посвященные сравнению МБИ и ПЦР-исследования, представлены единичными малокогортными зарубежными исследованиями с преимущественным изучением тканей клапанов, продемонстрировавшими большую диагностическую эффективность ПЦР по сравнению с МБИ [37, 62, 75, 137]. При этом число дискордантных результатов МБИ и ПЦР-исследования тканей сердечного клапана у оперированных пациентов по поводу ИЭ достигало 36%, а ложноположительных результатов МБИ тканей резецированных клапанов у пациентов без признаков ИЭ – 28% [124].

Особую роль у пациентов с ИЭ может играть формирование внеклеточных ловушек нейтрофилов (НВЛ) в вегетациях и пораженных клапанах сердца, которые могут вызывать повреждение окружающих тканей и усиливать провоспалительную реакцию [44, 58, 102]. Исследования НВЛ при сепсисе продемонстрировали их ассоциацию с плохим прогнозом и исходом [58, 102]. Экспериментальные данные по изучению НВЛ при ИЭ на крысах выявили непосредственную роль НВЛ в

индукции образования агрегатов бактерий-тромбоцитов, а также возможную связь с повреждением эндотелия [31, 87].

Таким образом, этиологическая диагностика ИЭ, как в крови (большие и малые критерии Дюка), так и при исследовании тканей резецированных клапанов (патологический критерий Дюка), играет важную роль для изучения эпидемиологии заболевания, определения дальнейшей тактики ведения пациентов, подбора оптимальной этиотропной терапии и определяет успешный исход лечения. Следует отметить, что МБИ является базовым методом идентификации возбудителя у пациентов с ИЭ, однако, в научной литературе все чаще встречаются данные о недостаточной диагностической эффективности этого метода. При этом следует подчеркнуть, что основные литературные данные по оценке точности методов этиологической диагностики при ИЭ встречаются редко, преимущественно в зарубежной литературе. Для исследования аспектов по улучшению этиологической диагностики на российской популяции оперированных пациентов с ИЭ представляется актуальным изучение диагностической эффективности МБИ при исследовании тканей резецированных клапанов, в том числе в сравнении с дооперационными результатами культурального исследования крови, а также определение значимости молекулярно-биологических методов (ПЦР-исследование и секвенирование) на разных этапах диагностики. Отсутствие исследований по определению значимости НВЛ у пациентов с ИЭ (имеются результаты на больных сепсисом и на экспериментальных моделях ИЭ крыс), делает этот аспект крайне актуальным. Особое значение приобретает тот факт, что все перечисленное не исследовано на российской популяции пациентов с ИЭ.

Степень разработанности темы

За последние 20 лет опубликован ряд работ, демонстрирующих низкую чувствительность традиционно применяемых микробиологических (культуральных) исследований для идентификации возбудителя ИЭ в крови и ткани клапана [2, 3, 9, 22, 73, 75, 124]. Отрицательные результаты МБИ крови

отмечаются в 2-40% случаев, а по отдельным данным – до 71% [3, 9, 72, 73], а при исследовании тканей клапанов – в 74-94% случаев ИЭ [37, 75, 92, 122].

Исследования, посвященные сравнению МБИ и ПЦР-исследований для идентификации этиопатогенетического агента ИЭ, представлены малым количеством зарубежных исследований преимущественно ретроспективных [62, 75, 94, 171], продемонстрировавших большую диагностическую эффективность ПЦР по сравнению с микробиологическими методами [37, 62, 75, 137]. В целом, чувствительность ПЦР-исследования варьирует от 40 до 100% [3, 9, 75, 117, 137]. В серии публикаций доказана превосходящая чувствительность ПЦР-исследования тканей резецированных клапанов по сравнению с МБИ крови и клапана [37, 75, 92]. Однако проведенные ранее исследования были направлены на сравнение чувствительности двух или трех представленных исследований этиологической диагностики.

В последнее время широко обсуждается новый патофизиологический механизм при инфекционных заболеваниях – иммунотромбоз, который представляет собой физиологический процесс активации эндотелиального, тромбоцитарного и плазменного звеньев гемостаза, приводящий к высвобождению НВЛ, служащих для захвата и уничтожения бактерий, попавших в кровоток [44, 103, 115]. Несмотря на прямую патофизиологическую связь образования НВЛ с инфекционным процессом, исследования НВЛ при ИЭ ограничены только единичными исследованиями на экспериментальной модели крыс, в которых показана их непосредственная роль в росте вегетаций [31, 87]. Исследования НВЛ у пациентов с ИЭ отсутствуют.

Цель исследования: Оценить методы этиологической диагностики в крови и тканях пораженных клапанов (микробиологические и молекулярно-биологические исследования), определить прогностическую значимость нейтрофильных внеклеточных ловушек у оперированных пациентов с ИЭ.

Задачи исследования:

У оперированных пациентов с ИЭ:

1. Проанализировать этиологическую структуру возбудителей по данным микробиологических методов исследования разных типов биологического материала (кровь, ткани резецированных клапанов).

2. Проанализировать этиологическую структуру возбудителей по данным молекулярно-биологических методов разных типов биологического материала (кровь, ткани резецированных клапанов).

3. Сравнить результаты обследований, полученных разными этиологическими методами (микробиологические и молекулярно-биологические исследования) в крови и тканях клапанов.

4. Проанализировать чувствительность изучаемых методов, в том числе в зависимости от локализации вегетации, возбудителя и предшествующей антибактериальной терапии.

5. Изучить прогностическую ценность наличия и количества нейтрофильных внеклеточных ловушек в крови, в том числе в сравнении с оперированными пациентами с пороками сердца без ИЭ и с сепсисом.

Методы и методология исследования

Проведено проспективное наблюдательное исследование. На первом этапе исследования проводился поиск и анализ данных научной литературы о чувствительности этиологических методов диагностики ИЭ и значении нейтрофильных внеклеточных ловушек при инфекционных заболеваниях. На втором этапе исследования в процессе обследования и лечения пациентов для подтверждения научной гипотезы были собраны клиничко-лабораторные данные, биологические образцы венозной крови и тканей иссеченных клапанов, изучена роль нейтрофильных внеклеточных ловушек в динамике у оперированных пациентов, выполнена статистическая обработка материала.

Научная новизна

Впервые на российской популяции оперированных пациентов с ИЭ проведено сравнение результатов одномоментных микробиологического и ПЦР-исследований крови и тканей клапанов, выполнена оценка чувствительности и

специфичности и показана ценность комплексной этиологической диагностики с повышением частоты выявления возбудителя на 28,9%.

Впервые оценены уровни нейтрофильных внеклеточных ловушек у оперированных пациентов с ИЭ и установлено отрезное значение для определения высокого риска госпитальной летальности и инфекционных осложнений в послеоперационном периоде.

Впервые на российской популяции оперированных пациентов проведено сравнение микробиологического исследования крови и клапана в зависимости от времени выполнения исследования, показавшее, что проведение микробиологического исследования на фоне антибактериальной терапии длительностью более 29 дней не информативно.

Практическая значимость

Показано, что микробиологическое исследование крови и тканей клапана у оперированных пациентов обладает высокой частотой необедительных (частое выявление *CoNS*) и отрицательных результатов при проведении в кардиохирургическом стационаре, так как вынужденно выполняется на поздних сроках диагностики (на фоне АБТ, инициированной во время предшествующих госпитализаций).

Показана ценность ПЦР-исследования крови и тканей клапанов у оперированных пациентов с ИЭ, позволяющая увеличить частоту выявления возбудителей до 73,1%, с наибольшим вкладом исследования тканей клапанов.

Показано, что применение ПЦР-исследования крови и тканей клапанов ценно не только при неуточненной этиологии ИЭ, но и для подтверждения результатов микробиологического исследования в качестве метода-контроля.

Продемонстрировано, что чувствительность ПЦР-исследования крови, выполненного отсрочено сопоставимо с результатами микробиологического исследования крови, выполненного на этапе постановки диагноза ИЭ.

Показано, что наибольшей чувствительностью обладает ПЦР-исследование ткани клапана, в том числе при предшествующей антибактериальной терапии, что особенно важно для длительно и неуспешно леченных пациентов, требующих

кардиохирургического лечения, и обосновывает целесообразность более широкого внедрения ПЦР для идентификации этиологического агента.

Показано, что уровень нейтрофильных внеклеточных ловушек $\geq 11,2\%$ обладает прогностической ценностью в отношении событий из первичной конечной точки (общая летальность и/или рецидив ИЭ в течение 6 месяцев после операции), госпитальной летальности и сепсиса при ИЭ.

Положения, выносимые на защиту

Микробиологические исследования, выполненные на разных этапах диагностики, выявили возбудителя ИЭ у 64,4% пациентов, из них у половины при микробиологическом исследовании крови на момент постановки диагноза ИЭ, у оставшихся – дополнительно в кардиохирургическом стационаре. Конкордантные результаты микробиологического исследования крови и клапана имелись у 13,5%, дискордантные – у 3,8%. Впервые при микробиологическом исследовании крови/клапана в кардиохирургическом стационаре возбудитель выявлен у 15,3%. Частота получения положительных результатов при микробиологическом исследовании крови снижалась более чем в 2 раза при отсроченном проведении. При микробиологическом исследовании крови/клапана наиболее часто определялись *Staphylococcus spp.* (36,5%), с преобладанием *S. aureus* (23,1%). CoNS достоверно чаще выявлялся при микробиологическом исследовании ткани клапана (13,5%).

ПЦР-исследование венозной крови и ткани клапана у оперированных пациентов было положительным в 73,1% случаев, преимущественно за счет исследования ткани клапана. Конкордантные результаты имелись у 38,5%. У 36,5% пациентов возбудитель выявлен только при ПЦР-исследовании ткани клапана. Помимо традиционных возбудителей с сохранением общей тенденции к преобладанию *Staphylococcus spp.* (40,4%), при ПЦР выявлены *Bartonella spp.* (5,8%) вне зависимости от вида исследуемого биологического материала.

Совпадение возбудителей, выявленных при микробиологическом и ПЦР-исследовании крови и тканей клапанов наблюдалось в 42,3% случаев. Впервые молекулярно-биологическими исследованиями возбудитель выявлен у 21,2%

пациентов. ПЦР-исследование позволило доказать контаминацию биологических образцов при микробиологическом исследовании у 11,5% обследуемых, из них из крови в 3,8%, из ткани клапана – в 9,6%, представленную *CoNS*. Кроме того, ПЦР-исследование позволило выявить ложноположительные результаты микробиологического исследования у 8,0% оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ.

Наименьшая чувствительность показана в отношении микробиологического исследования крови, выполненного в кардиохирургическом стационаре (чувствительность 17,3%, специфичность 100%, ОПЦ 53,8%, ППЦ 100%), которая была снижена в 2,5 раза из-за длительной дооперационной антибактериальной терапии. Наиболее точным оказалось ПЦР-исследование тканей клапанов, вне зависимости от длительности антибактериальной терапии (чувствительность 73,1%, специфичность 100%, ОПЦ 79,4%, ППЦ 100%). Чувствительность ПЦР-исследования крови (36,5%), выполненного вынуждено отсрочено в кардиохирургическом стационаре, была сопоставима с результатами микробиологического исследования крови, выполненного на этапе постановки диагноза ИЭ (42,3%).

Повышенный уровень нейтрофильных внеклеточных ловушек ассоциировался с наличием внутрисердечных осложнений у оперированных пациентов с ИЭ и развитием инфекционных осложнений в раннем послеоперационном периоде (сепсис, рецидив ИЭ). Пороговое значение нейтрофильных внеклеточных ловушек $\geq 11,2\%$ обладало прогностической ценностью в отношении госпитальной летальности и развития сепсиса у оперированных пациентов с ИЭ, а также в 8 раз увеличивало риск наступления событий из первичной конечной точки (общая летальность и/или рецидив ИЭ в течение 6 месяцев после операции).

Личный вклад. Автор самостоятельно провела тщательный анализ научной литературы, изучила степень разработанности темы, на основании чего были сформулированы цель и задачи исследования. Автором лично проведены сбор биологического материала (кровь, ткань клапанов), создание базы данных,

обработка первичной медицинской документации, статистический анализ данных, исследование нейтрофильных внеклеточных ловушек и подготовка полученных результатов к публикации.

Внедрение в практику

Результаты исследования внедрены в практическую работу и учебный процесс на кафедре внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики имени В. С. Моисеева Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», а также в практическую работу кардиологического отделения и отделения интенсивной терапии для больных инфарктом миокарда ГБУЗ ГКБ имени В. В. Виноградова ДЗМ (Москва).

Степень достоверности и апробация результатов. Научные положения и результаты диссертации имеют высокую степень достоверности и аргументации. При проведении исследования использованы сертифицированные приборы, методики отработаны. Апробация проведена 01.03.2023 на расширенном заседании кафедры внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики имени академика В. С. Моисеева Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы» и сотрудников ГБУЗ ГКБ В. В. Виноградова ДЗМ.

Материалы диссертации представлены на Европейском кардиологическом конгрессе (онлайн, 2021), 31-ом Европейском конгрессе клинической микробиологии и инфекционных заболеваний ЕССМID (онлайн, 2021), Российском национальном конгрессе кардиологов (Санкт-Петербург 2021, Казань 2022), конкурсе научных работ молодых ученых в рамках Ежегодной Всероссийской научно-практической конференции «Кардиология на марше 2022» (Москва, 2022), конкурсе научных работ молодых ученых в рамках VI Съезда молодых терапевтов Российского национального конгресса «Человек и лекарство-2022» (онлайн, 2022), Национальном конгрессе с международным участием «Сердечная недостаточность 2022» (Москва, 2022), Национальном конгрессе терапевтов (онлайн 2021, Москва 2022).

Публикации. По результатам диссертации опубликовано 7 работ, в том числе 4 публикации в журналах, входящих в международные базы данных (Scopus, WOS).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 140 страницах, состоит из введения, основной части и заключения. Список литературы включает 179 источников. В работе имеются 56 таблиц и 17 рисунков.

1 Обзор литературы

1.1 Характеристика инфекционного эндокардита у оперированных пациентов: клинико-демографические особенности, показания, виды оперативного лечения

Инфекционный эндокардит (ИЭ) является тяжелым заболеванием, которое связано с высокой заболеваемостью – 1,5-11,6 на 100 тыс. человек и летальностью 16-33% [12, 22, 39, 52, 82, 152], частота и тяжесть которого остаются неизменными (или даже увеличиваются), несмотря на улучшения в диагностических и терапевтических стратегиях. Так до начала 20 века летальность от ИЭ приближалась к 100%, первый прорыв в лечении ИЭ и значительное снижение уровня летальности в 2 раза был связан с открытием антибиотиков в 1940-х годах. Следующий прорыв в лечении этого заболевания отмечен в 1963 году, когда впервые была выполнена операция по протезированию клапана сердца у пациента с ИЭ, после этого летальность от ИЭ стала составлять около 20% [14]. Впервые в 1964 г. А. Wallace выполнил протезирование митрального клапана у пациента с ИЭ. В СССР первыми выполнили успешные операции по поводу ИЭ Соловьев Г. М. и Цукерман Г. И. Интересным является наблюдение, что дальнейшее развитие методов диагностики и лечения, в том числе кардиохирургии, не изменили уровень летальности, и она продолжает составлять около 20% [12, 22, 52, 73, 82]. Причины отсутствия улучшения прогноза включают в себя увеличение доли пожилых пациентов с более тяжелым течением заболевания, изменение эпидемиологических профилей и увеличение числа пациентов с протезированием клапанов, инфекцией, связанной с внутрисердечными устройствами и доли лиц с внутривенным употреблением психоактивных препаратов [7, 32, 73, 109, 154, 157, 170]. В то же время в эпидемиологии заболевания отмечается снижение доли хронической ревматической болезни сердца. Кроме того, важной проблемой остается высокая частота культуронегативного ИЭ. Так в крупном регистре ICE-PCS (2009 г.) [126] доля культуронегативного ИЭ составила 11%, тогда как по данным более позднего

регистра EURO-ENDO (2019 г.) [73] его доля не снизилась и составила 21%, несмотря на модернизацию алгоритма этиологической диагностики в Европейских рекомендациях 2015 года [72].

Хирургическое вмешательство при активном ИЭ является единственным видом радикального лечения и проводится у 50% пациентов [25, 27, 73, 126, 134]. Основными целями проведения хирургического лечения при ИЭ является полное удаление инфицированных тканей, санация очага инфекции и реконструкция клапанного аппарата и фиброзного кольца с восстановлением или заменой пораженных клапанов [54]. Предпочтение реконструктивным методам хирургического лечения отдается в случае возможности их выполнения и при наличии ограниченного распространения поражения клапанного аппарата, особенно при ИЭ митрального или трикуспидального клапана [54]. Тогда как при наличии локально неконтролируемой инфекции рекомендовано выполнять полное иссечение инфицированной и нежизнеспособной ткани с заменой клапана и реконструкцией дефектов [106, 126].

Хирургическое вмешательство при ИЭ связано с более низкими показателями летальности [40, 45, 134]. При этом хирургическое лечение реже проводится у пациентов с высоким риском шестимесячной летальности даже при наличии показаний [134]. Так, по данным ряда исследований госпитальная летальность у пациентов с ИЭ в общей популяции составляет 17,1-23,9% [73, 126], тогда как у оперированных пациентов с ИЭ этот показатель ниже и составляет 16,1-19,3% [134]. Госпитальная летальность существенно выше у пациентов, которым операция была показана, но не проведена [73]. Шестимесячная летальность у оперированных пациентов с ИЭ составляет 19,2-22,6% [134]. По данным крупного проспективного исследования (n=291) [163], раннее выполнение хирургического вмешательства при антибактериальной терапии (АБТ) менее 1-й недели, было связано с лучшей выживаемостью, однако наблюдалась тенденция к более высокому риску рецидива ИЭ или дисфункции протеза через 6 месяцев (16%, скорректированное ОШ 2,9, 95% ДИ от 0,99 до 8,40, p=0,05).

Отдаленные результаты ИЭ зависят от локализации. По данным Sheikh и соавт. (2009), отдаленная выживаемость больных, оперированных по поводу активного ИЭ митрального клапана, через 5, 7 и 10 лет наблюдения составляет 73%, 68% и 58% соответственно, 5-летняя выживаемость после вмешательства по поводу ИЭ аортального клапана составляет 88% при его реконструкции и 65% при его протезировании [153]. При реконструктивном вмешательстве на митральном клапане 10-летняя выживаемость также остается высокой – около 80% [53, 179].

При анализе клинико-демографической характеристики, пациенты с проведенным хирургическим лечением ИЭ имели более молодой возраст, меньшую частоту сопутствующих хронических заболеваний, онкологии, ВИЧ-инфекции и диализных катетеров, по сравнению с неоперированными пациентами с ИЭ ($p < 0,05$ для всех показателей), в обеих группах преобладающим являлся мужской пол [45].

За последнее десятилетие отмечен рост как первичного ИЭ, так и ИЭ на фоне дегенеративных пороков и протезного ИЭ. Первичная и вторичная форма ИЭ нативного клапана у пациентов, поступивших на хирургическое лечение, несколько отличаются между собой по клинико-морфологическим признакам и возбудителям [11]. При первичном ИЭ нативного клапана отмечалось преобладание доли пациентов с тяжелой сердечной недостаточностью (4 функционального класса по NYHA), с осложнением сепсисом или эмболическими событиями, а также преимущественно встречалось тяжелое деструктивное поражение аортального клапана. В этиологической структуре по данным МБИ крови и ткани клапана преобладали высоковирулентные микроорганизмы (*S.aureus*, грамотрицательные палочки и грибы). Напротив, при вторичном ИЭ отмечались неглубокие деструкции эндокарда с преимущественным поражением митрального клапана. При МБИ крови и клапана чаще выявлялись коагулазонегативные стафилококки, энтерококки и анаэробные микроорганизмы [11]. При вторичном ИЭ разнообразная морфологическая картина связана с более длительными сроками течения заболевания и представляет собой сочетание свежих вегетаций с элементами деструкции створок, покрытыми фиброзной капсулой или

с различной степенью обызвествления, с перфорациями, имеющими фиброзные края [4].

Пациенты с поражением аортального клапана, многоклапанным поражением, наличием внутрисердечного абсцесса или новой клапанной регургитации чаще подвергались хирургическому лечению [45, 134]. В большинстве случаев в общей популяции ИЭ выполняется протезирование клапанов (62-65%), значительно реже – реконструкция (5-6%); вмешательство на нескольких клапанах необходимо в четверти случаев (23-28%) [134].

Большинство операций при ИЭ проводится по жизненным показаниям в срочном или неотложном порядке [24, 28]. Неотложная операция особенно целесообразна при острой несостоятельности клапанов, независимо от ее степени, тогда как попытки продолжения консервативной терапии, как правило, приводят к тяжелым внутрисердечным осложнениям и прогрессированию инфекции [24].

Сроки хирургического лечения зависят от возбудителя, предрасполагающего заболевания сердца, ответа на АБТ и наличия осложнений ИЭ [3, 29, 72, 91, 123, 138]. О неэффективности АБТ можно уже судить по истечении 2-х недель этиотропного лечения, так как без регресса клинических и лабораторных признаков ИЭ, успех исключительно консервативной терапии маловероятен. Длительное неэффективное консервативное лечение значительно усугубляет течение заболевания, увеличивает сложность выполнения операции, способствует более тяжелому течению послеоперационного периода и связано с неблагоприятным исходом [4]. По данным предыдущих исследований при наличии одного показания для оперативного лечения ИЭ (неэффективная этиотропная терапия в течение 2-4 недель) операция была выполнена только у 9,7% пациентов, тогда как 50,7% пациентов были прооперированы только при развитии более двух показаний для хирургического лечения, что было связано с более тяжелым прогнозом у этих пациентов [4].

Выбор объема хирургического вмешательства основывается на ожидаемой продолжительности жизни пациента, возрасте, соблюдении антикоагулянтной терапии, информированном согласии пациента и сопутствующих заболеваниях [3,

72]. Для левостороннего ИЭ рекомендовано протезирование клапана с установкой механического или биологического протеза, тогда как при правостороннем ИЭ у наркоманов традиционно выполняются реконструктивные операции или установка биологического протеза в связи с высоким риском рецидива ИЭ и низкой комплаентности по отношению к приему антикоагулянтной терапии [3, 18, 72, 134, 177].

Показания к хирургическому лечению ИЭ в целом схожи при левосторонней и правосторонней локализации поражения. Раннее хирургическое лечение рекомендовано проводить, если появились или прогрессируют симптомы сердечной недостаточности (одышка, отек легких, кардиогенный шок) из-за деструкции клапана сердца, присутствуют признаки неконтролируемой инфекции или высокого риска эмболических осложнений [3, 72]. Развитие сердечной недостаточности имеет наибольшее влияние на прогноз ИЭ [40], поэтому при наличии этого осложнения рекомендуется выполнение операции в неотложном порядке. По данным Vohbot Y. и соавт. (2022) [40] у пациентов с СН наблюдался более высокий уровень 30-дневной и 1-летней летальности, чем у пациентов без СН (20,5% против 9,0% и 36,1% против 19,3%, соответственно). Операция также рекомендуется пациентам с острой тяжелой клапанной регургитацией, связанной с повышенным конечным диастолическим давлением левого желудочка [3, 72, 73]. Кроме того, размер вегетаций является предиктором эмболических событий и летальности [163]. В случае больших вегетаций польза от операции может быть больше на первой неделе антибактериальной терапии (АБТ), когда риск эмболических событий наиболее высок. Неконтролируемое течение инфекции связано с неблагоприятным прогнозом и определяется как (1) развитие локального неконтролируемого процесса (абсцесса, псевдоаневризмы, фистулы, роста вегетации); (2) инфекция, вызванная микромицетами или полирезистентными возбудителями; (3) положительные результаты МБИ крови, несмотря на адекватную АБТ [3, 72, 75]. Показаниями к операции у лиц, употребляющих внутривенные психоактивные препараты с правосторонним ИЭ являются наличие правосторонней сердечной недостаточности с плохим ответом на диуретики,

возникшей в результате тяжелой трикуспидальной регургитации; отсутствие эффекта от АБТ или бактериемия (например, ассоциированная с *S.aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*), сохраняющаяся в течение 7 дней и более; наличие на ТК больших вегетаций > 20 мм [3, 72, 74].

Микробиологический профиль больных, имеющих рецидив ИЭ на фоне возобновления внутривенного употребления психоактивных препаратов, несколько отличается от первичного эпизода ИЭ: во-первых, снижением доли *S.aureus*, хотя этот микроорганизм также является преобладающим возбудителем, во-вторых, увеличением доли стрептококкового, энтерококкового и грибкового ИЭ [80]. По данным Tattevin и соавт. (2014) грибковый ИЭ у лиц, употребляющих внутривенные психоактивные препараты отличается высокой летальностью, которая достигает 50% [161]. Наиболее часто выделяется *Candida albicans* и род *Aspergillus spp.* [135]. Кроме того, эта популяция подвержена инфекциям, вызываемыми условно патогенными микроорганизмами, такими как обычные микроорганизмы ротоглотки (например, *Haemophilus parainfluenzae*, *Eikenella corrodens* и *Streptococcus milleri*) [118, 119]. ИЭ, вызванный несколькими возбудителями, встречается редко, но имеет плохой прогноз, особенно когда он поражает более одного клапана [34].

В связи с низкой социальной ответственностью лиц с наркотической зависимостью и высоким риском рецидива ИЭ, некоторые центры настаивают на ограничении хирургического лечения у этой группы пациентов [55, 83, 116], тем не менее, по данным более поздних исследований, частота оперативного лечения у инъекционных наркоманов сопоставима с общей когортой ИЭ и составляет примерно 50% [89, 159].

Объем хирургического лечения у пациентов с правосторонним ИЭ, связанном с внутривенной наркоманией, зависит от степени разрушения клапана и включает реконструкцию или протезирование клапана [3, 72, 125]. В большинстве случаев при ИЭ трикуспидального клапана выполняется замена клапана биологическим протезом [88]. Rabkin и соавт. (2012) сообщили, что медиана выживаемости у наркоманов составляет всего 3 года, и поэтому биологические

протезы клапанов более оправданы даже для молодых пациентов [142]. По данным Shrestha и соавт. (2015) при ИЭ у лиц, употребляющих внутривенные психоактивные препараты, риск смерти или повторной операции возрастает через 90-180 дней после операции (ОР 9,8 95% ДИ от 2,7 до 35,3), по сравнению с пациентами с ИЭ, не употребляющими инъекционные наркотики [154].

Механические и биологические клапаны сердца (имплантируемые хирургическим путем или с помощью транскатетерных доступов) имеют высокий риск инфицирования, поскольку материал протеза находится в непосредственном контакте с кровью. На ИЭ протезированного клапана приходится примерно 20% всех случаев ИЭ, причем распространенность за последние два десятилетия растет [72, 166]. Частота развития ИЭ протезированного клапана колеблется в пределах 0,18-0,5% пациентов в год [25]. В странах с высоким уровнем дохода риск возникновения ИЭ протезированного клапана в 50 раз выше, чем у пациентов с нативным клапаном [130]. ИЭ протезированного клапана отличается высоким уровнем летальности, превышающим данный показатель при ИЭ нативного клапана [1, 110, 169]. Летальность при комбинированном медикаментозно-хирургическом лечении ИЭ протезированного клапана достигает 31%, а при медикаментозном лечении до 46% [21]. В зависимости от сроков развития ИЭ протезированного клапана классифицируется на ранний (до 12 месяцев после первичной операции) и поздний – (более 12 месяцев). Инфекционные агенты существенно отличаются при позднем и раннем ИЭ протезированного клапана [3]. Пациентам с осложненным ИЭ протезированного клапана и стафилококковой этиологией рекомендовано агрессивное лечение, состоящее в адекватной АБТ и раннем радикальном хирургическом лечении [3]. Риск рецидива ИЭ у пациентов, перенесших операцию по поводу ИЭ протезированного клапана, довольно высок и достигает 0,91-1,36% пациентов в год [13, 30].

Показания к повторному кардиохирургическому вмешательству в случае рецидива ИЭ зависят от его срока. Наиболее частым показанием к повторному вмешательству при позднем рецидиве ИЭ являлась прогрессирующая сердечная недостаточность, обусловленная поражением протеза клапана и его последующей

дисфункцией. Тогда как при раннем рецидиве ИЭ наиболее частым показанием к повторной операции была неэффективная АБТ, что было связано с наличием высоковирулентной микрофлоры. Редкими показаниями к повторному хирургическому лечению в случае рецидива ИЭ являлись внутрисердечное абсцедирование или эмболический синдром, что связано в целом с низкой частотой встречаемости данных осложнений после хирургического лечения [5]. Риск и частота развития рецидива ИЭ не зависят от типа имплантируемого протеза клапана [5].

Одним из перспективных методов хирургического лечения аортального стеноза является транскатетерная имплантация аортального клапана (TAVI). ИЭ после TAVI редкое осложнение, чаще всего протекает с нетипичной клинической картиной, что приводит к задержке его диагностики и лечения [105]. ИЭ возникает у 0,5-3,1% пациентов после TAVI [33, 132, 158, 162]. Аналогичные показатели заболеваемости ИЭ сообщаются после хирургической замены клапана [146]. По данным систематического обзора, включающем более 30 тысяч пациентов [89], показано, что микробиологический профиль ИЭ после TAVI несколько отличается от ИЭ протезированного клапана и общей популяции пациентов: наиболее распространенными микроорганизмами являются энтерококки (25,9%), на втором месте – золотистый стафилококк (16,1%) и коагулазонегативные стафилококки (14,7%), реже – *Streptococcus spp.* (12,5%), грамотрицательные микроорганизмы, группа НАСЕК и *Candida spp.* (11%).

У оперированных пациентов с ИЭ среди осложнений в послеоперационном периоде наиболее часто отмечается развитие тяжелой коагулопатии, требующей лечения факторами свертывания; рестернотомия по причине кровотечения или тампонады сердца: острое повреждение почек, требующее проведение заместительной почечной терапии; инсульт; синдром малого сердечного выброса; пневмония и атриовентрикулярные блокады после радикальной резекции абсцесса корня аорты с необходимостью установки постоянного электрокардиостимулятора [3, 72]. Если летальный исход возникает в послеоперационном периоде, то причина смерти чаще всего многофакторная. После хирургического лечения при ИЭ

сохраняется риск развития осложнений после выписки из стационара. Среди наиболее частых осложнений можно выделить повторную инфекцию, сердечную недостаточность, необходимость повторного хирургического вмешательства и смерть [3].

Таким образом, пациенты молодого возраста и с малой коморбидностью чаще подвергаются кардиохирургическому лечению, по сравнению с общей когортой пациентов с ИЭ. Микробиологический профиль оперированных пациентов значимо не отличается от общей группы ИЭ. Кроме того, выполнение хирургического вмешательства при ИЭ улучшает прогноз, что связано с более низкими показателями летальности.

1.2 Методы этиологической диагностики ИЭ у оперированных пациентов

1.2.1 Микробиологическое исследование венозной крови и тканей иссеченных клапанов сердца

ИЭ является инфекцией кровотока, в связи с чем МБИ крови является традиционным методом для определения возбудителя. Однако ряд исследований показывает низкую чувствительность этого метода, по данным разных авторов МБИ венозной крови остается отрицательным у 12,0-58,2% пациентов с диагнозом ИЭ [36, 37, 73, 92, 117, 144], а по отдельным данным до 71,2% [165]. Наиболее частой причиной культуронегативного ИЭ является сопутствующая или предшествующая АБТ, реже – привередливые, медленно растущие или не растущие на питательных средах микроорганизмы, а также неправильный забор биоматериала [46, 63].

Идентификация микроорганизмов при МБИ тканей клапана или при гистологическом исследовании считается патологическим критерием определенного ИЭ согласно модифицированным критериям Дюка [Клинические рекомендации по ИЭ Европейского общества кардиологов (2015), Клинические рекомендации ИЭ Минздрава России (2021)]. Однако низкая чувствительность и специфичность МБИ тканей клапана подчеркиваются в большинстве

исследований, при этом положительные результаты МБИ тканей клапана определяются только в 6-46% случаев ИЭ [8, 9, 36, 37, 92, 97, 117, 122, 124].

Также отдельно стоит отметить в целом высокую частоту культуронегативного ИЭ (20,4-71,2%) [48, 73, 165], что обусловлено широким использованием АБТ до постановки диагноза ИЭ, ограничениями МБИ, а также недостаточным применением дополнительных методов этиологической диагностики (иммунохимических и молекулярно-биологических) [50, 98, 104, 107]. Таким образом, для увеличения частоты ИЭ с выявленным возбудителем необходимо более широкое применение молекулярно-биологических методов (например, ПЦР-исследование и секвенирование), иммунохимических исследований и методов, основанных на масс-спектрометрическом анализе [10].

1.2.2 Молекулярно-биологическое исследование венозной крови и тканей иссеченных клапанов сердца

Молекулярно-биологические исследования – это группа методов, предназначенных для детекции в биологическом материале пациента нуклеиновой кислоты (РНК, ДНК). В том числе с применением метода ПЦР, в основе которого лежит многократное избирательное копирование (амплификация) определенного участка нуклеиновых кислот возбудителя ИЭ. С помощью родоспецифичной ПЦР возможно выявление более широкой генетической группы возбудителей – рода, семейства, без возможности определения до вида. Данный метод проводится для сужения диагностического поиска. Последующая расшифровка до вида возможна с помощью использования наборов реагентов на основе видоспецифичной ПЦР или секвенирования по Сэнгеру. Видоспецифичное ПЦР-исследование обладает высокой диагностической эффективностью для выявления как типичных для ИЭ микроорганизмов, так и трудно и некультивируемых бактерий [8].

Молекулярно-биологические методы, в частности ПЦР, позиционируются как методы, не зависящие от стадии культивирования и демонстрирующие большую чувствительность, даже при длительной АБТ по сравнению с традиционными культуральными исследованиями, что показано в серии

исследований [37, 62, 75, 137, 171]. В целом, чувствительность ПЦР-исследования варьирует от 40 до 100% [3, 75, 96, 100, 117, 137, 171].

В ретроспективном исследовании Voldstedlund и соавт. (2008) изучены МБИ венозной крови/ткани клапана и ПЦР-исследование ткани клапана у 74 пациентов с ИЭ и 16 пациентов без ИЭ [171]. Чувствительность МБИ венозной крови составила 71,6%, МБИ клапана – чувствительность 26,0%, специфичность 62,0%, ПЦР ткани клапана – чувствительность 72,0%, а специфичность 100%. У пациентов, которые получали АБТ менее 5 дней до операции, чувствительность МБИ и ПЦР были сопоставимы. Тогда как при приеме АБТ более 5 дней, чувствительность МБИ клапана заметно снижалась по сравнению с ПЦР-исследованием клапана [171]. Аналогичные данные отмечены Miller и соавт. (2016), которые показали, что ПЦР/секвенирование клапана способствовало этиологической диагностике в 54,0% (n=7/13) случаев при отрицательном посеве крови [117]. Авторы также отмечают высокую эффективность ПЦР (чувствительность 93,0%, специфичность 83,0%) в случае протезного ИЭ, по сравнению с МБИ ткани клапана (чувствительность 35,0%, специфичность 100%) [117].

Похожие данные получены Peeters и соавт. (2017), которые проспективно включили 120 оперированных пациентов с ИЭ, при этом чувствительность МБИ крови составила 87,0%, клапана – 26,0%, ПЦР-исследования тканей клапана – 87,0%. У 21,0% (n=27/127) пациентов ПЦР-исследование ткани клапана уточняло противоречивые результаты МБИ или было единственным методом идентификации возбудителя. В 10,0% (n=12/127) случаев послеоперационная АБТ была изменена, учитывая результаты ПЦР-исследования [137].

Другое ретроспективное исследование Halavaara и соавт. (2019) (n=87 оперированных пациентов), МБИ крови были положительными в 85,0% (n=74) случаев, МБИ клапанов было положительными в 22,0% (n=19), ПЦР-исследование ткани клапана в 74,0% (n=64). При отрицательных случаях МБИ крови ПЦР-исследование выявило возбудителя у 10/13 пациентов [75].

Armstrong и соавт. (2021) показали дополнительную диагностическую пользу ПЦР-исследования ткани клапана в 23% (n=34/146) случаев, кроме того ПЦР-исследование клапана подтвердило ложноположительные результаты МБИ крови в 17,4% (n=4/23), представленные *CoNS* [37].

Согласно Munoz и соавт. (2008) отмечено большое число дискордантных результатов МБИ и ПЦР тканей сердечного клапана у оперированных пациентов с ИЭ, достигающее 35,7% (n=10/28), а также частые ложноположительные результаты МБИ тканей клапанов у пациентов без признаков ИЭ (28,4%, n=293/1030) [124].

Кроме того, Kotilainen и соавт. (2006) [95], Voldstedlund и соавт. (2008) [171], Korber и соавт. (2017) [94] и Halavaara и соавт. (2019) [75] отметили, что на фоне АБТ возбудитель достоверно чаще выявлялся методом ПЦР в венозной крови/ткани клапана (до 64,6%), чем при МБИ крови/клапана. Zeaiter и соавт. (2003) показали, что предшествующая АБТ не влияла на чувствительность ПЦР-исследования крови [178].

Таким образом, этиологическая диагностика ИЭ играет важную роль для определения дальнейшей тактики ведения пациентов, подбора оптимальной этиотропной терапии и определяет успешный исход лечения. Следует отметить, что МБИ являются базовыми методами идентификации возбудителя у пациентов с ИЭ, однако, в научной литературе все чаще встречаются данные о недостаточной диагностической эффективности этого метода. При этом стоит подчеркнуть, что основные литературные данные по оценке точности методов этиологической диагностики при ИЭ встречается редко, преимущественно в зарубежной литературе. В связи с чем, является актуальным внедрение новых методов, не зависящих от стадии культивирования, например, молекулярно-биологических методов (ПЦР-исследование и секвенирование).

1.2.3 Патогистологическое исследование тканей иссеченных клапанов

Микроорганизмы, выявленные при МБИ или гистологическом исследовании ткани клапана или вегетаций, являются патологическим критерием Дюка [3, 72].

Патогистологическое исследование тканей иссеченного клапана имеет принципиальное значение, позволяя обнаруживать воспалительную инфильтрацию, оценивать ее клеточный состав, наличие мукоидной дегенерации, отложения фибрина и скопление микроорганизмов [101]. Необходимо подчеркнуть, что характер и степень воспаления могут варьировать в зависимости от инфекционного агента [104]. ИЭ, вызванный высоковирулентными микроорганизмами, например, *S.aureus*, часто связан с острым воспалением, характеризующимся обширной нейтрофильной инфильтрацией, большими колониями микроорганизмов и деструктивным характером поражения ткани. Напротив, при подостром ИЭ, в частности вызванном *Streptococcus viridans*, в дополнение к локальным скоплениям микроорганизмов и нейтрофильному воспалению, могут присутствовать признаки разрешения воспаления и репарации ткани, включая отложение фибрина и мононуклеарные воспалительные клетки. В случаях ИЭ, вызванного *Bartonella spp.*, *C. burnetii* или *T. whipplei*, ткань клапана может быть абсолютно нормальной или с признаками хронического воспаления в виде преобладания мононуклеарной, а не нейтрофильной инфильтрации, и макрофагов [101]. Для ИЭ, вызванного *T. whipplei*, характерно наличие очагов скоплений пенистых клеток. Макрофаги также могут быть обнаружены при эндокардите *C. burnetii*, хотя инфильтрация обычно менее выражена, чем при инфекции *T. whipplei*. Для ИЭ, вызванного *Bartonella spp.*, характерно формирование вегетаций небольшого размера, выраженный фиброз и макрофагальная и лимфоцитарная инфильтрация [104].

Кроме того, в диагностике ИЭ применяются микроскопические методы для исследования ткани клапана, позволяющие обнаружить скопление колоний микроорганизмов. Однако обнаружение микроорганизмов в тканях не обязательно указывает на активный ИЭ, поскольку элиминация микроорганизмов происходит значительно позже [122].

1.2.4 Структура возбудителей ИЭ у оперированных пациентов

Характер поражения клапанного аппарата и тяжесть течения ИЭ зависят от этиологического агента. Структура возбудителей ИЭ меняется по причине

изменения профиля пациентов с ИЭ, так современная структура ИЭ отличается преобладанием доли стафилококкового и энтерококкового ИЭ и снижением частоты стрептококкового ИЭ. По данным международного крупного регистра пациентов с ИЭ EURO-ENDO (2017-2019 гг.), отмечено, что наиболее часто встречающимся возбудителем является *Staphylococcus spp.*, его доля составила 27,1% (*Staphylococcus aureus* 18,6%), реже встречаются *Enterococcus spp.* в 10,0% и *Streptococcus spp.* в 12,1% (*Streptococcus viridans* в 8,0%) [73]. Этиология ИЭ различается в зависимости от предрасполагающих заболеваний сердца, так при врожденных пороках сердца в большинстве случаев выявляется *Streptococcus viridans*, при ИЭ протезированного клапана часто обнаруживается *Enterococcus spp.*, коагулазонегативные стафилококки (*CoNS*), грамотрицательные микроорганизмы и грибы, у внутривенных наркоманов наиболее часто ИЭ вызван *S. aureus*, при ИЭ внутрисердечных устройств – *S. aureus*, *S. epidermidis* и полифлорой [3, 22, 73, 175]. Кроме того, в последнее время отмечается тенденция к росту ИЭ, вызванного *Enterococcus spp.*, особенно у пациентов старше 65 лет [3, 23, 73].

По данным Yew и соавт. (2012) ИЭ, вызванный *S. aureus* или *CoNS*, ассоциирован с более тяжелым течением и высокой летальностью (25-50%), тогда как ИЭ, связанный *Streptococcus viridans*, напротив, связан с низким риском летального исхода [175]. При грибковом ИЭ летальность достигает 36-40%, а при ИЭ, вызванном грамотрицательными микроорганизмами, – до 24 % [22].

Как в группе оперированных, так и неоперированных пациентов редко встречаются такие возбудители ИЭ, как *Coxiella burnetii*, *Bartonella spp.*, *Brucella spp.*, *Tropheryma whippeli* [3, 73], что, возможно, связано с трудностями их диагностики. В частности, ИЭ, вызванный *Tropheryma whippeli*, имеет ряд особенностей по сравнению с классическим течением болезни Уиппла и другими причинами ИЭ. McGee M и соавт., проанализировав 156 случаев с подтвержденным *T. whippeli* ИЭ, показали, что самыми частыми симптомами ИЭ, вызванного *T. whippeli*, были артралгия (n=87, 52%), сердечная недостаточность (n=70, 41%), потеря веса (n=42, 25%), желудочно-кишечные симптомы (n=34, 21%), лихорадка

(n=36, 21%) и эмболии в головной мозг (n=26, 17%) [113]. Среди методов этиологической диагностики существенное преимущество имело ПЦР-исследование тканей сердечных клапанов, позволив поставить диагноз в 72% случаев, кроме того, иммуногистохимический анализ был положительным на *T. whipplei* в 51% случаев, а реакция Шифф-йодной кислотой в 39% при исследовании ткани клапана. Наиболее часто вовлекается аортальный клапан (43%), но также могут поражаться митральный и трикуспидальный клапан или их сочетание. ИЭ, вызванный этим возбудителем, чаще развивается у пациентов, имеющих в анамнезе заболевания клапанного аппарата сердца или перенесших протезирование клапана. ИЭ, вызванный *T. whipplei*, остается сложным заболеванием по целому ряду причин. Во-первых, неспецифические клинические проявления, часто несоответствующие критериям Дюка, и их многообразие может быть причиной постановки неправильного диагноза. Во-вторых, ранняя диагностика затруднительна, поскольку культуры крови и клапанов будут отрицательными. Для выявления возбудителя необходимы специальные методы исследования (в том числе патогистология, молекулярно-биологические и иммунохимические исследования ткани клапана). Следовательно, диагноз может быть поставлен только после хирургического лечения. В-третьих, оптимальное лечение этих пациентов в долгосрочной перспективе остается неопределенным, так как рекомендации по АБТ основаны на данных небольших наблюдательных исследований. Учитывая все вышеперечисленные факторы, важно отметить, что несмотря на редкость этого возбудителя в структуре заболеваемости ИЭ, уровень летальности высок и составляет около 30% [46].

ИЭ, вторичный по отношению к бруцеллезу на нативных или протезированных клапанах, считается крайне редким (0,3-2%) [145], но тяжелым и потенциально смертельным заболеванием. Бруцеллез является эндемичным заболеванием для Средиземноморья, Ближнего Востока, Южной Азии и Южной Америки. Бруцеллез в основном передается человеку через употребление непастеризованных и инфицированных продуктов животного происхождения или вдыхание аэрозоля инфицированных частиц и при контакте с животными.

Бруцеллез у людей в основном вызывается одним из трех видов: *Brucella melitensis*, *Brucella abortus* или *Brucella suis*. Наиболее распространенными жалобами являются лихорадка неизвестного происхождения с ночной потливостью, недомоганием, астенией и артралгией. Особенности ИЭ, вызванного *Brucella spp.*, являются наиболее частое поражение нативного аортального клапана (80%), а при имеющихся заболеваниях клапанного аппарата сердца – преимущественно митрального клапана [56]; частое осложнение в виде развития абсцесса миокарда, образования крупноразмерных вегетаций со склонностью к эмболизации [145]; основной причиной смерти является застойная сердечная недостаточность из-за деструкции клапана и околоклапанных структур. *Brucella* – грамотрицательный внутриклеточный микроорганизм, который медленно размножается и требует специальных питательных сред, поэтому МБИ крови часто бывает отрицательным. В исследовании Du N и соавт. у всех пациентов с ИЭ, вызванном *Brucella spp.* (n=5, 3%) ПЦР-анализ крови был положительным (5/5, 100%), однако МБИ крови было положительным у трех пациентов (3/5, 60%), выявив *Brucella melitensis* [56]. Во всех случаях были обнаружены антитела против бруцелл с высокими титрами (5/5, 100%) при иммунохимическом исследовании. Принимая во внимание малую выборку исследования, отмечается небольшая диагностическая эффективность МБИ и решающее значение молекулярно-биологических и иммунохимических методов для выделения возбудителя у больных с бруцеллезным ИЭ. Трехкомпонентная АБТ, включающая аминогликозид, доксициклин и рифампин, с последующим оперативным вмешательством является предпочтительной схемой лечения [56, 145].

Другие внутриклеточные бактерии – *Bartonella spp.*, обычно передаются членистоногими и редко вызывают ИЭ. Известно 6 видов бартонелл, вызывающих ИЭ у людей, однако наиболее часто выявляется *Bartonella hensalae* и *Bartonella quintana* [57]. Edouard S и соавт., анализируя 106 пациентов с подтвержденным ИЭ, вызванным *Bartonella spp.*, выделили эпидемиологические особенности этого заболевания: среди пациентов с *B. quintana* ИЭ (n=48) были лица без определенного места жительства (n=18), страдающие алкоголизмом (n=8) и внутривенной

наркоманией (n=4) и имевшие контакт с вшами (n=3) [57]. *B. henselae* ИЭ (n=39) чаще наблюдался у пациентов, контактировавшими с кошками (n=22, 56%). ИЭ, вызванный *Bartonella spp.*, чаще встречается у людей с уже существующим поражением клапанных структур, которое является фактором риска и обуславливает значительную деструкцию клапана; таким образом, хирургическое вмешательство требуется в более чем 90% случаях, что выше, чем при ИЭ, вызванном другими возбудителями. Поскольку *Bartonella spp.* являются привередливыми микроорганизмами и относятся к культуронегативному ИЭ, молекулярно-биологические и иммунохимические методы остаются наиболее распространенными для диагностики. При иммунофлюоресцентном анализе титры антител более 1:800 выявлялись в большинстве случаев ИЭ (28/47, 60% для *B. quintana* и 19/36, 53% для *B. henselae*). Для ИЭ, вызванного *B. quintana*, ПЦР ткани клапанов позволила выявить возбудителя у 26/27 (96%) пациентов. ПЦР образцов крови была положительной в 13/28 (46%) случаях, и ПЦР образцов сыворотки – в 13/32 (41%) случаях. Для *B. henselae* ПЦР-анализ ткани клапана также имел преимущество, позволив выявить возбудителя у 19/20 (95%) пациентов, ПЦР крови была положительной в 6/24 (25%), а ПЦР образцов сыворотки – в 12/24 (50%) случаях [57].

В исследовании Cabell и соавт. (2005) отмечены различия в возбудителях ИЭ: так у оперированных пациентов в 2 раза чаще наблюдался ИЭ, вызванный коагулазонегативными стафилококками, по сравнению с неоперированными (9% против 5,2%, $p=0,004$), кроме того, часто отмечались зеленящие стрептококки (24,6% против 30,7%, $p=0,01$) с небольшим преобладанием в группе неоперированных пациентов [45].

Таким образом, у оперированных пациентов с ИЭ, так же как и у неоперированных, преобладающим возбудителем является *Staphylococcus spp.* с преобладанием *S. aureus*. А также наблюдается общая тенденция в современной структуре ИЭ как оперированных, так и неоперированных пациентов – увеличение доли энтерококкового ИЭ и снижение частоты стрептококкового ИЭ.

1.3 Роль нейтрофильных внеклеточных ловушек при ИЭ

В последнее время активно обсуждается новый патофизиологический механизм при инфекционных заболеваниях – иммунотромбоз, который представляет собой физиологический процесс активации эндотелиального, тромбоцитарного и плазменного звеньев гемостаза, приводящий к высвобождению нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ), служащих для захвата и уничтожения бактерий, попавших в кровоток (Рисунок 1) [15, 103, 115].

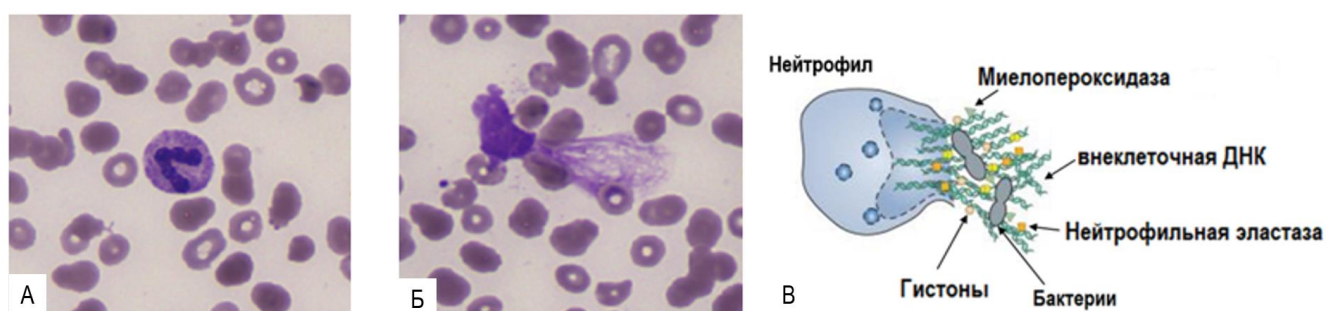


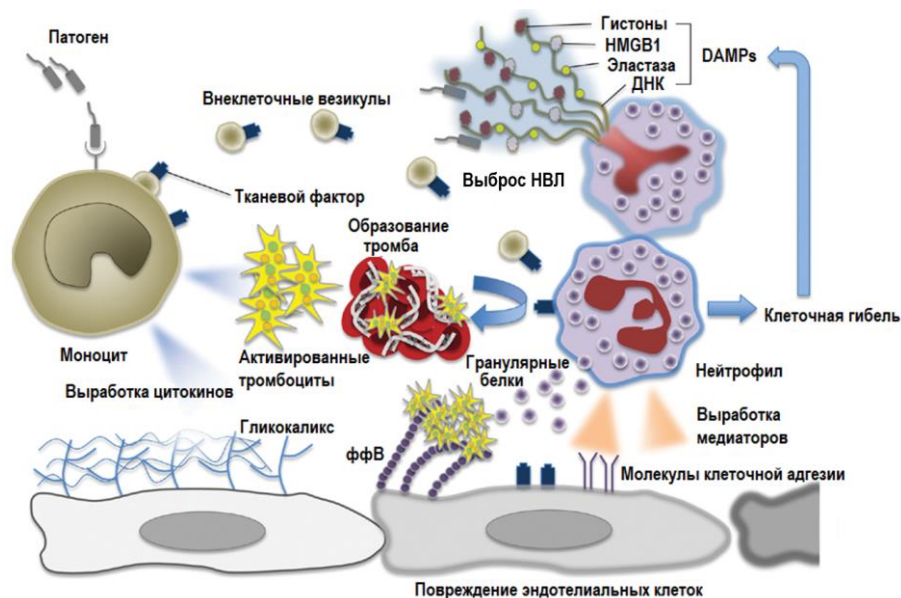
Рисунок 1 – А – нативный нейтрофил; Б – нейтрофильная внеклеточная ловушка (НВЛ) у больного ИЭ (окраска по Романовскому-Гимзе ($\times 500$)); В – схема образования нейтрофильной внеклеточной ловушки (НВЛ).

Нейтрофилы, наиболее распространенный тип фагоцитов, присутствующих в крови, составляют важную часть врожденной иммунной системы человека и обладают противомикробной активностью посредством фагоцитоза и нетоза [44, 120]. Последний был описан Brinkmann и соавт. (2004) и заключается в высвобождении внеклеточных ловушек нейтрофилов (НВЛ) в ответ на патогенный микроорганизм [44]. НВЛ являются важной составляющей неспецифического иммунного ответа, способны физически связывать бактерии, предотвращая их распространение, с последующей элиминацией под действием высвобождения многочисленных пептидов и ферментов гранулоцитов [44].

Процесс нетоза представляет собой генетически детерминированную запрограммированную гибель нейтрофилов и связан с последовательными необратимыми морфологическими изменениями этих клеток: деконденсацией

хроматина, фрагментацией и дезагрегацией ядерных мембран, смешиванием ядерных структур с цитоплазмой и высвобождением их вместе с содержимым гранул во внеклеточное пространство при нарушении целостности цитоплазматической мембраны.

Образование НВЛ направлено на реализацию реакций, осуществляемых клеточными элементами неспецифической иммунной защиты организма. Однако, в отличие от фагоцитоза, неконтролируемый нетоз приводит к избыточному появлению НВЛ, токсичных для организма, способствует прогрессированию воспалительных и аутоиммунных процессов, провоцирует развитие тромбозов и может быть причастным к патогенезу сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний [6]. Неконтролируемый нетоз приводит к избыточному появлению НВЛ, повреждающих нормальные клетки организма, способствует прогрессированию воспалительных и аутоиммунных процессов, является каркасом для налипания тромбоцитов и провоцирует образование тромбов (Рисунок 2) [133].



Примечания – фФВ – фактор фон Виллебранда, DAMP – молекулярные паттерны, связанные с повреждением структур клетки, HMGB1 – белок box 1 из группы белков с высокой подвижностью.

Рисунок 2 – Патогенез активации нейтрофилов и образования НВЛ (адаптировано из [84]).

Широко обсуждается роль НВЛ в индукции стерильного воспаления при аутоиммунных заболеваниях [66, 71, 90, 99, 150] и атеросклерозе [93], а также при бактериальных [44, 79], вирусных [65, 128, 140, 149], грибковых инфекциях [38, 167] и сепсисе [141, 176], кроме того, показана их роль при венозном тромбозе [43] и других заболеваниях. Однако эти данные в основном продемонстрированы на экспериментальных моделях.

В исследовании Кассиной и соавт. (2020) изучался уровень НВЛ у больных с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19), у которых отмечалось повышение этого показателя в 3 раза по сравнению со здоровыми пациентами, а также отмечена связь высоких уровней НВЛ с неблагоприятным прогнозом [6]. Снижение исходно высокого уровня НВЛ, обнаруженных в крови, отражало улучшение клинического состояния и эффективность проводимой терапии. И напротив, увеличение НВЛ было связано с ухудшением общего состояния и риском негативного развития событий: перевод в реанимационное отделение с последующей респираторной терапией или летальный исход [6].

При сепсисе также продемонстрирована ассоциация НВЛ с плохим прогнозом и исходом [102]. Интересные данные получены Patel и соавт. (2018), которые показали, что летальность у пациентов с сепсисом была связана с уменьшением нетоза *ex vivo* в связи с относительной иммуносупрессией у этих пациентов [136].

Изучение НВЛ при ИЭ ограничено экспериментальными данными на крысах, в которых выявлена непосредственная роль НВЛ в индукции образования агрегатов бактерий-тромбоцитов, приводящих к росту вегетации, а также возможная связь с повреждением эндотелия [87]. Исследования НВЛ на пациентах с ИЭ отсутствуют. Кроме того, в большинстве исследований не было количественной оценки НВЛ, а анализировались только маркеры, связанные с образованием НВЛ (внеклеточная ДНК, нейтрофильная эластаза 2, миелопероксидаза и катепсин G, гистоны H1, H2A, H2B, H3 и H4 и другие), в связи с чем прямой анализ и подсчет уровня НВЛ в мазках крови (Рисунок 3) с изучением

этого показателя в отношении прогноза и тяжести заболевания является актуальным.

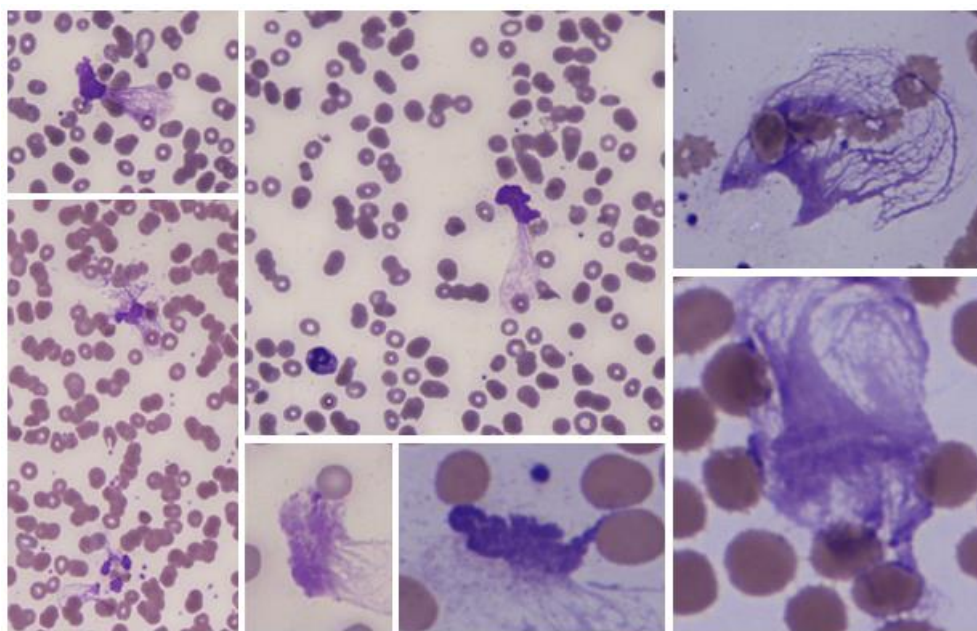


Рисунок 3 – нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ) у пациентов с ИЭ (окраска по Романовскому-Гимзе ($\times 500$)).

Таким образом, изучение роли формирования НВЛ и их количества при ИЭ представляет особый интерес как маркера тяжести инфекционного процесса и прогностического показателя осложненного течения заболевания.

2 Материалы и методы исследования

Работа состоит из двух частей. Первая часть представляет собой проспективное исследование особенностей комплексной этиологической диагностики ИЭ у оперированных пациентов; вторая – изучение прогностической роли нейтрофильных внеклеточных ловушек у оперированных пациентов с ИЭ.

2.1 Клинико-демографическая характеристика оперированных пациентов с ИЭ, группы оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ и группы сепсиса, включенных в исследование

В исследование эффективности комплексной этиологической диагностики ИЭ проспективно включено 52 оперированных пациента с достоверным/вероятным диагнозом ИЭ, госпитализированных в кардиохирургический стационар (г. Москва) в 2021-2022 гг. В качестве группы контроля проспективно включено 50 пациентов, оперированных по поводу клапанных пороков сердца, исключая ИЭ, госпитализированных в кардиохирургический стационар (г. Москва) в 2021-2022 гг. Во вторую часть исследования роли НВЛ в качестве группы контроля №1 включены 50 пациентов, оперированных по поводу клапанных пороков сердца, исключая ИЭ, госпитализированных в кардиохирургический стационар (г. Москва) в 2021-2022 гг. В качестве группы контроля №2 включены 53 пациента с сепсисом любой этиологии, госпитализированных в отделение реанимации и интенсивной терапии многопрофильного стационара (г. Москва) в 2022 г.

Всем оперированным пациентам проводилась оценка клинико-демографических показателей, данных анамнеза, клинических симптомов и показаний к оперативному лечению. Демографические данные включали в себя возраст, пол, рост, вес, индекс массы тела (ИМТ). Данные анамнеза: длительность течения заболевания от появления первых симптомов до постановки диагноза ИЭ и до операции, наличие врожденных и приобретенных пороков сердца, протезирования клапанов сердца, указание на ранее перенесенный ИЭ, связь ИЭ с приемом внутривенных психоактивных препаратов, сопутствующие заболевания

(сахарный диабет, артериальная гипертония, ишемическая болезнь сердца, фибрилляция предсердий, хроническая обструктивная болезнь легких, бронхиальная астма, хроническая болезнь почек, цереброваскулярные заболевания, цирроз печени, вирусный гепатит В и С, онкологические заболевания). Эмболические осложнения оценивались на основании клинических данных с обязательным подтверждением любым визуализирующим методом диагностики (ультразвуковое исследование, рентген, компьютерная томография/магнитно-резонансная томография), а также по данным аутопсии. У всех пациентов была оценена до- и послеоперационная медикаментозная терапия.

Критериями включения в группу оперированных пациентов с ИЭ являлись: возраст старше 18 лет, достоверный/вероятный ИЭ (критерии Дюка, Клинические рекомендации по ИЭ Европейского общества кардиологов, 2015, Клинические рекомендации Минздрава России, 2021), активный ИЭ (патологические критерии Дюка, Клинические рекомендации по ИЭ Европейского общества кардиологов, 2015, Клинические рекомендации Минздрава России, 2021), наличие информированного согласия на сбор обезличенных медицинских данных. Для пациентов из группы сепсиса критериями включения были возраст старше 18 лет, постановка диагноза сепсис (≤ 24 ч) любой этиологии, наличие информированного согласия на сбор обезличенных медицинских данных. Критерии исключения: неактивный ИЭ, небактериальный тромбоэндокардит, активные онкологические заболевания, пациенты, получающие иммуносупрессивную терапию.

Диагноз достоверного или вероятного ИЭ устанавливали на основании модифицированных критериев Дюка и патологического критерия Дюка (Клинические рекомендации по ИЭ Европейского общества кардиологов, 2015, Клинические рекомендации Минздрава России, 2021). Факт внутривенного употребления психоактивных препаратов оценивался на анамнестических данных пациента или его родственников. Наличие сопутствующих заболеваний оценивалось при помощи индекса коморбидности Чарльсон [49]. У всех обследуемых диагностирован активный леченный ИЭ. Стоит отметить, что пациенты поступали в кардиохирургический стационар после длительного

дооперационного курса АБТ, поэтому в большинстве случаев наблюдалась стертая клиническая картина, однако активность инфекционного процесса во всех случаях подтверждена результатами гистологического анализа иссеченного клапана.

Острое течение ИЭ расценивалось при наличии выраженной интоксикации и системном воспалении, быстром формировании (в течение 1-2 недель) клапанной регургитации [3], что отмечалось у 28,8% (n=15) пациентов. Подострое течение ИЭ связано с умеренно выраженным системным воспалением и интоксикацией с формированием клапанной регургитации через 3-4 недели от появления лихорадки [3], которое наблюдалось в 71,2% (n=37) случаев.

ИЭ у оперированных пациентов отличался преобладанием лиц мужского пола 80,8% (n=42), медиана возраста составила 55,5 [IQR 44-70] лет, преимущественно левосторонней локализации – у 65,4% (n=34). У обследованных пациентов с ИЭ наблюдалась высокая коморбидность (индекс Чарльсон составил Me [IQR] 4,0 [2,0-6,0] балла). При ИЭ преимущественно встречались сердечно-сосудистые заболевания у 57,7% (n=30), с высокой частотой артериальной гипертонии у 53,9% (n=28) и сердечной недостаточности в анамнезе у 21,2% (n=11). Также часто имелся вирусный гепатит С у 36,5% (n=19). Более чем у трети пациентов ИЭ был ассоциирован с внутривенным употреблением психоактивных препаратов (n=18). Клинико-демографическая характеристика оперированных пациентов с ИЭ представлена в Таблице 1.

Таблица 1 – Клинико-демографическая характеристика оперированных пациентов с ИЭ

Показатель	Значение
Мужчин, n (%)	42 (80,8)
Возраст, лет, Me [IQR]	55,5 [44,0-70,0]
Локализация вегетаций на ТК, n (%)	16 (30,8)
АК, n (%)	13 (25,0)
МК, n (%)	13 (25,0)
АК+МК, n (%)	8 (15,4)
МК+ТК, n (%)	1 (1,9)

АК+МК+ТК, n (%)	1 (1,9)
Сердечно-сосудистые заболевания, n (%)	35 (67,7)
• АГ, n (%)	28 (53,9)
• СН в анамнезе, n (%)	13 (25,0)
• ИБС, n (%)	8 (15,4)
• ФП, n (%)	4 (7,7)
ХБП, n (%)	7 (13,5)
Инсульт/ТИА в анамнезе, n (%)	4 (7,7)
СД 2 типа, n (%)	7 (13,5)
ХОБЛ/Бронхиальная астма, n (%)	4 (7,7)
Вирусный гепатит С, n (%)	19 (36,5)
Внутривенное употребление психоактивных препаратов, n (%)	18 (34,6)
Индекс Чарльсон, баллы, Me [IQR]	4,0 [2,0-6,0]

Примечание – АК – аортальный клапан, МК – митральный клапан, ТК – трикуспидальный клапан, АГ – артериальная гипертония, СН – сердечная недостаточность, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ФП – фибрилляция предсердий, ХБП – хроническая болезнь почек, ТИА – транзиторная ишемическая атака, СД – сахарный диабет, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких.

Вторичный ИЭ отмечен более чем у половины пациентов (57,7%). Предрасполагающие факторы ИЭ представлены в Таблице 2.

Таблица 2 – Характеристика предрасполагающих факторов к ИЭ у оперированных пациентов (n=52)

Показатель	Значение
Первичный ИЭ, n (%)	22 (42,3)
Вторичный ИЭ, n (%)	30 (57,7)
Дегенеративный порок сердца, n (%)	20 (38,5)
• Миксоматозная дегенерация, n (%)	11 (21,2)
• Кальциноз клапана, n (%)	9 (17,3)
Двустворчатый АК, n (%)	7 (13,5)
Протезированный клапан, n (%)	3 (5,8)

Примечание – ИЭ – инфекционный эндокардит, АК – аортальный клапан.

Клинические проявления ИЭ на момент госпитализации в кардиохирургический стационар представлены в Таблице 3. В подавляющем большинстве случаев отмечались шум в сердце (100%), одышка (84,6%) и гепатомегалия (75,0%). Классические признаки ИЭ, такие как пятна Лукина встречались очень редко в 3,8% случаев, пятна Дженуэя и узелки Ослера не были отмечены ни у одного пациента.

Таблица 3 – Клинические проявления у оперированных пациентов с ИЭ на момент госпитализации в кардиохирургический стационар (n=52)

Показатель	Значение
Шум в сердце, n (%)	52 (100)
Одышка, n (%)	44 (84,6)
Гепатомегалия, n (%)	39 (75,0)
Спленомегалия, n (%)	29 (55,8)
Кашель, n (%)	26 (50,0)
Боль в грудной клетке, n (%)	24 (46,2)
Периферические отеки, n (%)	23 (44,2)
Артралгии, n (%)	17 (32,7)
Боль в пояснице, n (%)	11 (21,2)
Потеря веса, n (%)	9 (17,3)
Лихорадка, (n, %)	6 (11,5)
Пурпура, n (%)	6 (11,5)
Синкопе, n (%)	6 (11,5)
Пятна Лукина, n (%)	2 (3,8)
Симптом «барабанных палочек», n (%)	1 (1,9)

Исходные внутрисердечные осложнения наблюдались у 80,8% (n=42) пациентов с ИЭ, преимущественно представленные отрывом хорд (21,2%, n=11), абсцессами клапанов (21,2%, n=11) и перфорацией створки (19,2%, n=10), реже встречались – фистула клапана (11,5%, n=6) и дисфункция протеза (5,8%, n=3). Эмболические события до операции наблюдались у 50,0% (n=26) пациентов, после операции эмболических событий не отмечалось.

Также стоит отметить длительные сроки диагностики у пациентов с ИЭ как от первых симптомов до диагноза (Me [IQR]) 41 [25-64] день), так и до операции

(62 [39-87] дня). Период госпитализации с ИЭ в кардиохирургическом стационаре составил ($M \pm SD$) $34 \pm 20,8$ дня.

Характеристика оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ и группы пациентов с сепсисом

Оперированные пациенты с пороками сердца без ИЭ и пациенты с сепсисом не отличались от группы оперированных пациентов с ИЭ по основным клинико-демографическим параметрам (Таблица 4).

Таблица 4 – Характеристика оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ и группы сепсиса по сопутствующим заболеваниям

Показатель	Оперированные пациенты с пороками без ИЭ (n=50)	Сепсис (n=53)
Сердечно-сосудистые заболевания, n (%)	50 (100,0)	38 (71,7)
АГ, n (%)	37 (74,0)	32 (60,4)
СН в анамнезе, n (%)	50 (100,0)	26 (49,1)
ИБС, n (%)	20 (40,0)	28 (52,8)
ФП, n (%)	9 (18,0)	18 (34,0)
ХБП, n (%)	14 (28,0)	38 (71,7)
Инсульт/ТИА в анамнезе, n (%)	1 (2,0)	12 (22,6)
СД 2 типа, n (%)	7 (14,0)	29 (54,7)
ХОБЛ/Бронхиальная астма, n (%)	8 (16,0)	3 (5,7)
Вирусный гепатит С, n (%)	2 (4,0)	2 (3,8)
Цирроз печени, n (%)	0 (0)	6 (11,3)
ВИЧ, n (%)	0 (0)	1 (1,9)
Индекс Чарльсон, баллы, Me [25-75%]	4,0 [2,0-5,0]	6,0 [3,0-7,0]

Примечание – АГ – артериальная гипертония, СН – сердечная недостаточность, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ФП – фибрилляция предсердий, ХБП – хроническая болезнь почек, СД – сахарный диабет, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, ВИЧ – вирус иммунодефицита человека.

Согласно современной концепции «Сепсис-3», сепсис определяется как патологический процесс, в основе которого лежит реакция организма в виде системного воспаления на инфекцию различной природы (бактериальную, вирусную, грибковую), приводящая к остро возникающей органной дисфункции [17, 61]. Критериями сепсиса являлись подозреваемая или документированная инфекция в сочетании с остро возникшей органной дисфункцией при индексе по шкале SOFA 2 балла и более от базового значения [17, 61]. Септический шок расценивался как наиболее тяжелый клинический вариант течения сепсиса, характеризующийся выраженными циркуляторными, клеточными, метаболическими нарушениями, которые проявлялись артериальной гипотонией и повышением уровня лактата в артериальной крови более 2 ммоль/л, несмотря на адекватную инфузию, и требующую введения вазопрессоров для поддержания среднего артериального давления 65 мм рт.ст. и выше при отсутствии признаков гиповолемии [17, 61, 155].

Пациенты с сепсисом представляли собой достаточно гетерогенную группу. Из 53 обследуемых пациентов инфекционный очаг сепсиса установлен в 94,6%, в большинстве случаев представленный уросепсисом (43,4%) или абдоминальным сепсисом (28,3%) (Таблица 5). Госпитальная летальность у пациентов с сепсисом составила 34,0% (n=18). У 39,6% (n=21) обследуемых наблюдалось развитие септического шока.

Таблица 5 – Характеристика инфекционного очага у пациентов с сепсисом (n=53)

Показатель	Значение
Инфекционный очаг	
Урологический сепсис, n (%)	23 (43,4)
Абдоминальный сепсис, n (%)	15 (28,3)
Гнойно-некротическая инфекция мягких тканей, n (%)	8 (15,1)
Сепсис, развившийся вследствие пневмонии, n (%)	3 (5,7)
Гинекологический сепсис, n (%)	1 (1,9)
Источник не определен, n (%)	3 (5,6)

Шкала SOFA, баллы, Ме [25-75%]	4 [3-10]
Септический шок, n (%)	21 (39,6)
Госпитальная летальность, n (%)	18 (34,0)

Этиологическая диагностика проводилась всем пациентам с сепсисом МБИ венозной крови и проб различных биоматериалов (мокроты, трахеального аспирата, бронхоальвеолярного лаважа, мочи, отделяемого по дренажу, операционного материала). МБИ венозной крови было положительным у 18,9% (n=10/53) пациентов. Этиология сепсиса была представлена широким спектром возбудителей (Таблица 6). ПЦР-исследование в этой группе пациентов не проводилось.

Таблица 6 – Этиологическая структура у пациентов с сепсисом (n=53)

Возбудитель	n (%)
<i>Staphylococcus spp.</i> (n=2, 3,8%)	
<i>S. aureus</i>	1 (1,9)
<i>CoNS</i>	1 (1,9)
<i>Enterococcus spp.</i> (n=2, 3,8%)	
<i>Ent. faecium</i>	1 (1,9)
<i>Ent. faecalis</i>	1 (1,9)
<i>Streptococcus spp.</i> (n=1, 1,9%)	
<i>Str. pyogenes</i>	1 (1,9)
Другие возбудители	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 (1,9)
<i>Escherichia coli</i>	1 (1,9)
Полифлора	
<i>Staphylococcus spp.</i> + <i>CoNS</i> + <i>Klebsiella pneumonia</i>	1 (1,9)
<i>Klebsiella pneumonia</i> + <i>Acinetobacter baumannii</i> + <i>Candida spp.</i>	1 (1,9)
<i>Klebsiella pneumonia</i> + <i>Escherichia coli</i>	1 (1,9)
Возбудитель ИЭ не выявлен	43 (81,1)

Примечание – *CoNS* – коагулазонегативный стафилококк.

2.2 Оценка лабораторных показателей

У всех обследуемых пациентов оценивались стандартные лабораторные исследования: общий анализ крови с определением СОЭ, расширенный биохимический анализ крови (Na⁺, K⁺, АСТ, АЛТ, креатинин, С-реактивный белок) (Таблица 7).

У большинства пациентов с ИЭ (84,6%, n=44) имела место железодефицитная анемия легкой (53,8%, n=28) и средней степени тяжести (30,8%, n=16) и повышение воспалительных маркеров в крови. Оценка лабораторных показателей показана в Таблице 7.

Таблица 7 – Оценка лабораторных показателей у оперированных пациентов с ИЭ

Показатель	ИЭ	
	исходно	динамика
Гемоглобин, г/л (M±SD)	104,8±19,1	97,9±16,2
RDW, % (Me [IQR])	15,2 [13,9-17,1]	15,7 [13,5-18,0]
Лейкоциты, 10 ⁹ /л, (Me [IQR])	10,2 [7,9-14,4]	8,8 [6,0-11,7]
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л, (Me [IQR])	8,2 [5,6-11,8]	8,0 [5,3-11,4]
Тромбоциты, 10 ⁹ /л, (Me [IQR])	205,0 [148,3-246,8]	229,0 [160,5-314,8]
С-реактивный белок, мг/л (M±SD)	116,7±80,1	45,0±42,9*
СОЭ, мм/ч (M±SD)	56,7±30,7	45,2±26,5
Прокальцитонин, нг/мл (Me [IQR]), n=34	1,0 [0,2-2,7]	НД
Креатинин, мкмоль/л (Me [IQR])	97,5 [76,1-121,0]	91,0 [72,7-150,3]
СКФ, мл/мин/1,73м ² (Me [IQR])	77,9 [52,3-99,9]	76,9 [44,4-101,2]

Примечание – RDW – ширина распределения эритроцитов по объему, НД – недостаточно данных, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, СКФ – скорость клубочковой фильтрации;

* – значимость различий с исходными показателями (p < 0,001).

2.3 Оценка показаний к хирургическому лечению ИЭ и пациентов с пороками сердца без ИЭ

Показания для хирургического лечения ИЭ определялись согласно действующим клиническим рекомендациям [3, 72]. В большинстве случаев показанием для хирургического лечения у пациентов с ИЭ была резистентная сердечная недостаточность или тяжелая недостаточность клапана (96,2%). Необходимость профилактики эмболических осложнений и неконтролируемое течение инфекции встречались у половины пациентов (51,9% и 44,2%, соответственно). Риск периоперационной летальности при ИЭ составил 3,1% по шкале EuroSCORE II [129] и оценивался как низкий (Таблица 8).

Таблица 8 – Показания для хирургического лечения ИЭ (n=52)

Показатель	Значение
СН или тяжелая недостаточность клапана, (n, %)	50 (96,2)
Профилактика эмболических осложнений (n, %)	27 (51,9)
Неконтролируемая инфекция, (n, %)	23 (44,2)
2 показания, (n, %)	25 (48,1)
3 показания, (n, %)	11 (21,2)
ФВ ЛЖ, % (M±SD)	60,8±6,4
EuroSCORE II, баллы Me [25-75%]	3,1 [1,8-4,5]

Примечание – СН – сердечная недостаточность, ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка.

Показанием для оперативного лечения в группе контроля преимущественно был стеноз аортального клапана у 30,0% (Таблица 9). У одного включенного пациента, имеющего анамнез внутривенного употребления психоактивных препаратов и ранее перенесенного протезирования клапана вследствие ИЭ, имела место несостоятельность биологического протеза трикуспидального клапана.

Таблица 9 – Показания для хирургического лечения пациентов с пороками сердца без ИЭ (n=50)

Показатель	Значение
Дегенеративный порок сердца, (n, %)	25 (50,0)
Кальцинированный порок сердца, (n, %)	22 (44,0)
Миксоматозная дегенерация, (n, %)	3 (6,0)
Врожденный порок сердца/двустворчатый АК, (n, %)	18 (36,0)
Ревматический порок сердца, (n, %)	5 (10,0)
Пролапс митрального клапана, (n, %)	1 (2,0)
Несостоятельность протеза клапана, (n, %)	1 (2,0)
ФВ ЛЖ, % (M±SD)	56,7±9,4
EuroSCORE II, баллы Me [25-75%]	1,8 [1,0-2,3]

Примечание – АК – аортальный клапан, ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка.

Объем проведенного хирургического лечения и тип протезированных клапанов у пациентов из группы контроля представлен в Таблице 10.

Таблица 10 – Вид хирургического лечения в группе ИЭ и группе оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ

Показатель	ИЭ (n=52)	Оперированные пациенты с пороками (n=50)
Механический протез, (n, %)	27 (51,9)	47 (94,0)
Биологический протез, (n, %)	25 (48,1)	2 (4,0)
Пластика клапана, (n, %)	5 (9,6)	4 (8,0)
Репротезирование клапана (n, %)	3 (5,8)	1 (2,0)
Вмешательство на ≥ 2 клапанах, (n, %)	9 (17,3)	3 (8,0)

Примечание – ИЭ – инфекционный эндокардит.

2.4 Оценка осложнений в послеоперационном периоде у пациентов с ИЭ

В раннем послеоперационном периоде осложнения наблюдались у 67,3% (n=35) пациентов с ИЭ (Таблица 11). Госпитальная летальность составила 11,5% и имела многофакторную причину, которая включала сердечную недостаточность

(n=6), желудочковые нарушения ритма (n=3) и прогрессирование инфекции с развитием сепсиса (n=4).

Таблица 11 – Осложнения в раннем послеоперационном периоде у пациентов с ИЭ (n=52)

Показатель	n (%)
Послеоперационный период гладкий	17 (32,7)
Осложнения, из них:	35 (67,3)
➤ Инфекционные осложнения:	5 (14,3)
○ Сепсис	4 (11,4)
○ Рецидив раннего протезного ИЭ	1 (2,9)
➤ Другие:	
○ ОПП	28 (80,0)
○ Постперикардотомный синдром	15 (42,9)
○ Гидроторакс	12 (34,3)
○ Снижение ФВ ЛЖ ($\geq 5\%$)	6 (17,1)
○ Аритмии (ФЖ/ФП de novo)	5 (14,3)
○ Поперечная блокада с ПЭКС	3 (8,6)
○ Геморрагический инсульт (на фоне варфарина)	1 (2,9)
Госпитальная летальность	6 (11,5)
○ Сердечная недостаточность	6 (11,5)
○ Желудочковые нарушения ритма	3 (5,8)
≥ 2 осложнений	21 (40,4)

Примечание – ИЭ – инфекционный эндокардит, ОПП – острое повреждение почек, ХБП – хроническая болезнь почек, ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка, ФЖ – фибрилляция желудочка, ФП – фибрилляция предсердий, ПЭКС – постоянный электрокардиостимулятор.

За период наблюдения в течение 180 дней после операции неблагоприятный исход был отмечен еще у 5,8% (n=3) пациентов: рецидив ИЭ у 3,8% (n=2) на фоне продолжающегося приема внутривенных психоактивных препаратов, летальный исход при прогрессировании сердечной недостаточности у 1,9% (n=1).

2.5 Антибактериальная терапия у оперированных пациентов с ИЭ

Продолжительность дооперационного лечения рассчитывали от первого дня приема внутривенной АБТ до дня операции. Дооперационная АБТ проводилась у 100% (n=52), из них схемы, включающие гликопептиды были назначены 84,6% (n=44) пациентов. Несколько реже назначались цефалоспорины 55,8% (n=29), аминогликозиды 36,5% (n=19) и карбапенемы 30,8% (n=16). Остальные препараты назначались в отдельных случаях. Медиана дооперационной АБТ составила 27,5 [17,3-38,8] дней. Характеристика дооперационной АБТ у оперированных пациентов с ИЭ представлена в Таблице 12.

Таблица 12 – Дооперационная антибактериальная терапия у пациентов с ИЭ (n=52)

Показатель	Значение
Гликопептиды, n (%)	44 (84,6)
Ванкомицин, n (%)	44 (84,6)
Цефалоспорины, n (%)	29 (55,8)
Цефтриаксон, n (%)	19 (36,5)
Цефазолин, n (%)	4 (7,7)
Цефотаксим, n (%)	3 (5,8)
Цефепим, n (%)	2 (3,8)
Цефоперазон+сульбактам, n (%)	1 (1,9)
Аминогликозиды, n (%)	19 (36,5)
Гентамицин, n (%)	18 (34,6)
Амикацин, n (%)	1 (1,9)
Карбапенемы, n (%)	16 (30,8)
Меропенем, n (%)	15 (28,8)
Имипенем, n (%)	1 (1,9)
Пенициллины, n (%)	9 (17,3)
Амоксициллин+сульбактам, n (%)	4 (7,7)
Ампициллин, n (%)	2 (3,8)
Ампициллин+сульбактам, n (%)	2 (3,8)
Оксациллин, n (%)	1 (1,9)
Фторхинолоны, n (%)	6 (11,5)
Ципрофлоксацин, n (%)	5 (9,6)
Левифлоксацин, n (%)	1 (1,9)

Липопептиды, n (%)	5 (9,6)
Даптомицин, n (%)	5 (9,6)
Тетрациклины, n (%)	1 (1,9)
Тигециклин, n (%)	1 (1,9)
Оксазолидиноны, n (%)	1 (1,9)
Линезолид, n (%)	1 (1,9)
Линкозамиды, n (%)	1 (1,9)
Линкомицин, n (%)	1 (1,9)

2.6 Этиологическая диагностика параллельными микробиологическим и ПЦР-исследованием крови и тканей иссеченных клапанов

В рамках представленной работы всем пациентам из основной группы (оперированные пациенты с ИЭ, n=52) и группы контроля (оперированные пациенты без ИЭ, n=50) выполнялась комплексная этиологическая диагностика одновременными МБИ и молекулярно-биологическими исследованиями (ПЦР или ПЦР с последующим секвенированием) крови и тканей резецированных клапанов. Для всех пациентов с ИЭ также оценивалось МБИ крови, выполненное на предыдущих этапах, до госпитализации в кардиохирургический стационар.

В зависимости от микроорганизма, выявленного разными методами (МБИ и ПЦР-исследование крови и ткани клапана), конкордантным результатом считалось совпадение результатов этиологической диагностики, не менее 2/4 методов (МБИ и ПЦР-исследования). Дискордантный результат – несовпадение результатов этиологической диагностики между всеми методами (МБИ и ПЦР-исследования). Ложноположительный результат (контаминация) – выявление типичных микроорганизмов в недостаточном количестве проб и/или относящихся к нетипичным возбудителям ИЭ при МБИ, с подтверждением другого более типичного возбудителя при МБИ другого вида биологического материала и/или ПЦР-исследовании или без переподтверждения этиологического агента иным этиологическим методом. Контаминация при ПЦР-исследовании расценивалась как выявление ДНК патогена $< 10^3$ копии/мл. Впервые выявленный возбудитель – патоген, достоверно определенный только одним из методов [3, 10].

Для этиологических и патогистологических исследований ткань резецированного клапана разделяли на 3 равных части: (1) для бактериологического (микробиологического) исследования, (2) для ПЦР-исследования с секвенированием, (3) для патогистологического исследования.

2.6.1 Микробиологическое исследование крови

Взятие крови у пациентов для проведения этиологической лабораторной диагностики осуществлялось до оперативного вмешательства в кардиохирургическом стационаре путем пункции периферической вены. Все манипуляции осуществляли со строгим соблюдением правил асептики и антисептики. Использовались только одноразовые стерильные расходные материалы и инструменты, в том числе перчатки, иглы и шприцы. Кожа в области пункции обрабатывалась 2% раствором йода, затем 70% раствором спирта.

У каждого пациента для лабораторного исследования проводилось взятие крови в объеме не менее 20 мл трехкратно с интервалом в 20-30 минут из трех разных периферических вен. Каждую пробу равномерно распределяли в 2 флакона с питательной средой для исследования на аэробные и анаэробные возбудители, содержащие сорбент для антибиотиков: BacT/ALERT FA Plus (аэробная среда) и BacT/ALERT FN Plus (анаэробная среда) через новую стерильную иглу для каждого флакона. Флаконы инкубировались в автоматическом бактериологическом анализаторе BacT/Alert 3D (bioMérieux, Франция) в течение 5 дней. В случае положительного результата проводилась окраска по Граму, идентификация возбудителя с помощью MALDI-ToF масс-спектрометра Vitek MS (bioMérieux, Франция), а также определение его чувствительности к антибиотикам с помощью автоматического микробиологического анализатора Vitek-2 compact (bioMérieux, Франция). Средняя продолжительность выполнения бактериологического исследования составляла 5-10 дней.

2.6.2 Микробиологическое исследование тканей иссеченных клапанов

Взятие образцов тканей пораженного клапана для проведения этиологической лабораторной диагностики осуществлялось в стерильных условиях непосредственно в операционной. Образец клапана (часть № 1) в условиях операционной помещали в стерильный пластиковый контейнер с жидкой питательной средой (5% глюкозный бульон) при комнатной температуре. После доставки в лабораторию в асептических условиях образец переносили в стерильный пластиковый пакет и подвергали гомогенизации с помощью лабораторного миксера «MiniMix» (Interscience, США). Гомогенизированные образцы помещали в термостат и выдерживали при 37°C в течение 48-72 ч. с ежедневным просмотром и высевом на плотные питательные среды в случае наличия визуальных признаков роста микроорганизмов. После окончания срока инкубации образцы высевали на плотные питательные среды. При наличии роста микроорганизмов проводили их идентификацию с помощью MALDI-TOF масс-спектрометра Vitek MS (bioMérieux, Франция), а также определяли их чувствительность к антибиотикам с помощью автоматического микробиологического анализатора Vitek-2 compact (bioMérieux, Франция). Средняя продолжительность выполнения МБИ составляла 5-10 дней.

2.6.3 Молекулярно-биологическое исследование крови (ПЦР-исследование и секвенирование)

При выполнении одновременно с МБИ молекулярно-биологического исследования от каждого пациента проводилось взятие крови в объеме 5 мл в стерильную пробирку с ЭДТА, которая доставлялась в отдел молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (г. Москва). Транспортировка биологического материала осуществлялась согласно методическим указаниям «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности» (2010) в течение 24 часов. Экстракция

ДНК из образцов биологического материала проводилась при помощи набора реагентов «Рибо-преп» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора), согласно инструкции производителя. Постановка и анализ результатов амплификации проводились на приборах с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени «Rotor-Gene» 3000/6000 («Corbett Research», Австралия), «Rotor-Gene Q» («Qiagen», ФРГ) в соответствии с инструкциями производителей. Для проведения реакции циклического секвенирования применялся набор реагентов «BigDye Terminator kit v1.1» («Applied Biosystems», США). Анализ полученных нуклеотидных последовательностей проводился в сравнении с нуклеотидными последовательностями, представленными в международной базе данных Национального центра биотехнологической информации (NCBI). Секвенирование по Сэнгеру выполнялось только при положительном ПЦР-исследовании для уточнения вида возбудителя. Средняя продолжительность выполнения ПЦР – 4-6 часов, ПЦР с секвенированием – 1-2 дня.

Перечень возбудителей, определяемых молекулярно-биологическими исследованиями:

- стафилококки (*Staphylococcus spp.*, *S. aureus*, *CoNS* и др.),
- стрептококки (*Streptococcus spp.*, *Str. viridans*, *Str. bovis* и др.),
- энтерококки (*Enterococcus spp.*, *Ent. faecalis*, *Ent. faecium* и др.),
- *Corynebacterium spp.*,
- Грамотрицательные не-НАСЕК (*Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacteriaceae*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Escherichia spp.*, *Klebsiella spp.* и др.),
- Грамотрицательные НАСЕК (*Haemophilus spp.*, *Aggregatibacter spp.*, *Cardiobacterium spp.*, *Eikenella spp.*, *Kingella spp.*),
- редкие возбудители (*Brucella spp.*, *Bartonella spp.*, *Tropheryma Whipplei*, *Coxiella burnetii*, *Mycoplasma spp.*, *Chlamydophila spp.*),
- грибы (*Candida u Aspergillus spp.*).

2.6.4 Молекулярно-биологическое исследование тканей иссеченных клапанов (ПЦР-исследование и секвенирование)

Молекулярно-биологическое исследование тканей резецированных клапанов проводилось в Центральном НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора по методике, аналогичной проведению ПЦР-исследования крови, описанной выше. Образец клапана (часть № 2) забирался в стерильный контейнер при комнатной температуре, который доставлялся в отдел молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (г. Москва). В случае невозможности доставки образца в течение 48 часов он подвергался заморозке при температуре -70°C .

Транспортировка биологического материала осуществлялась согласно методическим указаниям «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности» (2010) в течение 24-48 часов.

2.6.5 Патогистологическое исследование тканей иссеченных клапанов

Патогистологическое исследование тканей резецированных клапанов проводилось в лаборатории кардиохирургического стационара. Образец клапана (часть № 3) забирался в стерильный контейнер с формалином при комнатной температуре и доставлялся в гистологическую лабораторию в течение 24-48 часов.

Для изучения гистопатологических особенностей (активность воспалительного процесса) тканей резецированных клапанов проводилось окрашивание гематоксилин-эозином. Для обнаружения микроорганизмов в тканях резецированных клапанов проводилось окрашивание по Граму.

2.7 Исследование нейтрофильных внеклеточных ловушек в крови

Исследование НВЛ в крови в рамках представленной работы было выполнено 46 (88,5%) оперированным пациентам с ИЭ, 50 (100%) оперированным пациентам по поводу пороков сердца, исключая ИЭ (группа контроля №1), и 53 (100%) пациентам с сепсисом (группа контроля №2).

Для проведения исследования НВЛ у пациентов проводилось взятие венозной крови из периферических вен со строгим соблюдением правил аспетики и антисептики в объеме 2 мл в стерильную пробирку с ЭДТА, из которой в течение 20 минут выполнялись три мазка на предметных стеклах по типу «монослой» из 2 мкл цельной крови. Далее проводилась фиксация мазков в красителе-фиксаторе эозине метиленовом синем по Май-Грюнвальду в течение 3,5 мин с последующей окраской в красителе Азур-Эозин по Романовскому-Гимзе в течение 20-25 мин. Микроскопия окрашенных мазков проводилась с помощью системы автоматической микроскопии МЕКОС-Ц2 (ООО «Медицинские компьютерные системы (МЕКОС)», Россия) в соответствии с оригинальной авторской методикой [20]. От каждого пациента исследование НВЛ проводилось в динамике дважды по схеме 0-7 сутки.

В мазках проводили подсчет количества нативных неразрушенных лейкоцитов (нейтрофилов, эозинофилов, базофилов) и уровень нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ), всего 200-250 структур. Количественный подсчет НВЛ проводился по формуле:

$$НВЛ, \% = N_{НВЛ} / (N_{нат.нейтрофилы} + N_{эозинофилы} + N_{базофилы}) * 100\%,$$

где $N_{НВЛ}$ – количество нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ), $N_{нат.нейтрофилы}$ – количество нативных нейтрофилов, $N_{эозинофилы}$ – количество эозинофилов, $N_{базофилы}$ – количество базофилов.

2.8 Эхокардиографическое исследование

Эхокардиографию (ЭхоКГ) проводили на аппарате VIVID 7 (General Electrics, США) согласно стандартному протоколу с прицельным осмотром клапанного аппарата. Чреспищеводная ЭхоКГ выполнялась датчиком 6Т в стандартных плоскостях в двухмерном и цветном доплеровском режиме с измерением необходимых показателей. ЭхоКГ выполняли в день госпитализации, периоперационно, а также в динамике для оценки эффективности терапии, течения

заболевания и наличия послеоперационных осложнений. Предоперационные показатели ЭхоКГ пациентов с ИЭ представлены в Таблице 13.

Таблица 13 – Предоперационные показатели ЭхоКГ пациентов с ИЭ (n=52)

Показатель	Значение
Вегетации ≥ 2 клапанах, n (%)	10 (19,2)
Максимальный размер вегетации, мм (Me [IQR])	15,5 [10,0-20,0]
при левостороннем ИЭ, мм (Me [IQR])	13,5 [10,0-18,3]
при правостороннем ИЭ, мм (Me [IQR])	18,5 [11,5-22,8]
Вегетации ≥ 13 мм, n (%)	30 (57,7)
Увеличение размера вегетаций в динамике/появление на другом клапане, n (%)	32 (61,5)
Тяжелая регургитация на клапане, n (%)	49 (94,2)
АК, n (%)	17 (32,7)
МК, n (%)	22 (42,3)
ТК, n (%)	17 (32,7)
Увеличение тяжести регургитации в динамике, n (%)	37 (71,2)
ФВ ЛЖ, (M \pm SD)	60,8 \pm 6,4
$\geq 50\%$, n (%)	51 (98,1)
41-49%, n (%)	1 (1,9)
Клапанные осложнения:	28 (53,8)
отрыв хорд, n (%)	11 (21,2)
перфорация створки, n (%)	10 (19,2)
наличие абсцессов, n (%)	11 (21,2)
наличие фистул, n (%)	6 (11,5)
дисфункция протеза, n (%)	3 (5,8)

Примечание – ИЭ – инфекционный эндокардит, АК – аортальный клапан, МК – митральный клапан, ТК – трикуспидальный клапан, ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка.

2.9 Оценка исходов у пациентов с ИЭ

Краткосрочные исходы оценивались за период лечения в кардиохирургическом стационаре. После выписки из стационара посредством телефонных контактов и данных электронной медицинской карты оценивали долгосрочные исходы в течение 6 месяцев после операции. Оценивалась первичная

конечная точка – комбинированный показатель: общая летальность от всех причин и/или рецидив ИЭ в течение 6 месяцев после операции; вторичная точка – комбинированный показатель (госпитальная летальность от всех причин, эмболические, внутрисердечные, инфекционные осложнения), госпитальная летальность, внутрисердечные осложнения (абсцесс, фистула, перфорация и т. д.), эмболические события, инфекционные осложнения (ранний протезный ИЭ, сепсис).

2.10 Перспективы исследования

Несмотря на значительные успехи в диагностике и лечении, пациенты с ИЭ по-прежнему имеют неблагоприятный прогноз, таким образом, представляется актуальным поиск новых ранних предикторов осложненного течения ИЭ. Определение уровня НВЛ в крови при поступлении и в динамике через 7 дней представляется перспективным методом для оценки прогноза у пациентов с ИЭ, в связи с чем, представляется актуальным проведение крупных рандомизированных исследований по изучению прогностической роли НВЛ. А также перспективным является совершенствование молекулярно-биологических методов по разработке и внедрению диагностических подходов, направленных на выявление генетических маркеров резистентности и факторов вирулентности микроорганизмов.

2.11 Статистический анализ результатов исследования

Статистический анализ был проведен в программе Statistical Package for Social Sciences software (IBM® SPSS® Statistics, Version 27) и Excel 2016 (Microsoft, США). Количественные переменные описывали как среднее арифметическое значение (M) и стандартное отклонение среднего значения (SD) (при нормальном распределении) или для количественных переменных с ненормальным распределением рассчитывалась медиана (Me) и интерквартильный размах (IQR) или медиана (Me) и минимальное и максимальное значение (min-max).

Качественные переменные описывали абсолютными (n) и относительными (%) значениями. С целью оценки нормальности распределения применялся тест Колмогорова-Смирнова. Различия частот категориальных переменных в группах оценивался с помощью критерия χ -квадрат или точного критерия Фишера. Для сравнения количественных переменных в двух группах применялся t-тест Стьюдента и U-критерий Манна–Уитни при нормальном и ненормальном распределении признаков, соответственно. Корреляционный анализ был проведен с расчетом коэффициентов корреляции Пирсона и Спирмена, последний рассчитывался при переменных, имеющих ненормальное распределение. Отрицательная прогностическая ценность (ОПЦ) метода определялась как вероятность отсутствия заболевания у пациентов с отрицательным результатом исследования и оценивалась как отношение истинно отрицательных результатов к сумме истинно отрицательных и ложноотрицательных результатов. Положительная прогностическая ценность (ППЦ) метода определялась как вероятность наличия заболевания у пациентов с положительным результатом исследования и оценивалась как отношение истинно положительных результатов к сумме истинно положительных и ложноположительных результатов. Точность метода оценивалась как отношение суммы истинно и ложноположительных результатов к сумме истинно-ложноположительных и истинно-ложноотрицательных результатов. Для оценки прогностического значения НВЛ в отношении каждой из конечных точек проводился однофакторный анализ с разделением значений указанного показателя на квартили. Квартилями считались значения выборки, разделяющие ее на четыре равные части. Предикторы наступления первичных и вторичных конечных точек, показавших значимость при однофакторном анализе, включались в многофакторный анализ, где при помощи логистической регрессии определялось отношение шансов (ОШ) и 95% доверительный интервал (ДИ). Для оценки влияния показателей использовали ROC-анализ с определением площади под кривой (AUC). Пороговые значения для количественных предикторов устанавливались на основе ROC-анализа при оптимальном соотношении чувствительности и специфичности. Оценку

статистически значимых различий кривых выживаемости проводили с помощью Log Rank теста (анализ выживания Каплана-Майера). На основании показателей выживаемости по каждому исследованию были построены графические изображения – кривые выживаемости. Во всех видах анализа статистически значимым считалось значение $p < 0,05$.

3 Результаты исследования

3.1 Этиологическая структура возбудителей ИЭ по данным микробиологических методов исследования

МБИ крови выполнено всем пациентам с ИЭ (100%, n=52) до поступления и одномоментные МБИ крови и тканей иссеченных клапанов в кардиохирургическом стационаре.

Положительные результаты МБИ венозной крови до поступления в кардиохирургический стационар получены у половины пациентов (50,0%, n=26), с преобладанием *Staphylococcus spp.* (Таблица 14).

Таблица 14 – Этиологическая структура ИЭ по данным микробиологического исследования крови до поступления в кардиохирургический стационар (n=52)

Возбудитель	n (%)
<i>Staphylococcus spp.</i> (n=14, 26,9%)	
<i>S. aureus</i> MSSA	10 (19,2)
CoNS	4 (7,7)
• <i>S. epidermidis</i>	3 (5,8)
• <i>S. haemolysans</i>	1 (1,9)
<i>Streptococcus spp.</i> (n=6, 11,5%)	
<i>Str. mitis</i>	3 (5,8)
<i>Str. mutans</i>	2 (3,8)
<i>Str. pneumoniae</i>	1 (1,9)
<i>Enterococcus spp.</i> (n=5, 9,6%)	
<i>Ent. faecalis</i>	5 (9,6)
Другие возбудители	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 (1,9)
Возбудитель ИЭ не выявлен	26 (50,0)

Примечание – CoNS – коагулазонегативный стафилококк, MSSA – чувствительный к метициллину *S. aureus*.

В кардиохирургическом стационаре МБИ образцов венозной крови было положительным у 17,3% (n=9/52) пациентов, клапана – у 28,8% (n=15/52) (Таблица 15). Также сохранялось преобладание стафилококков и энтерококков, не было

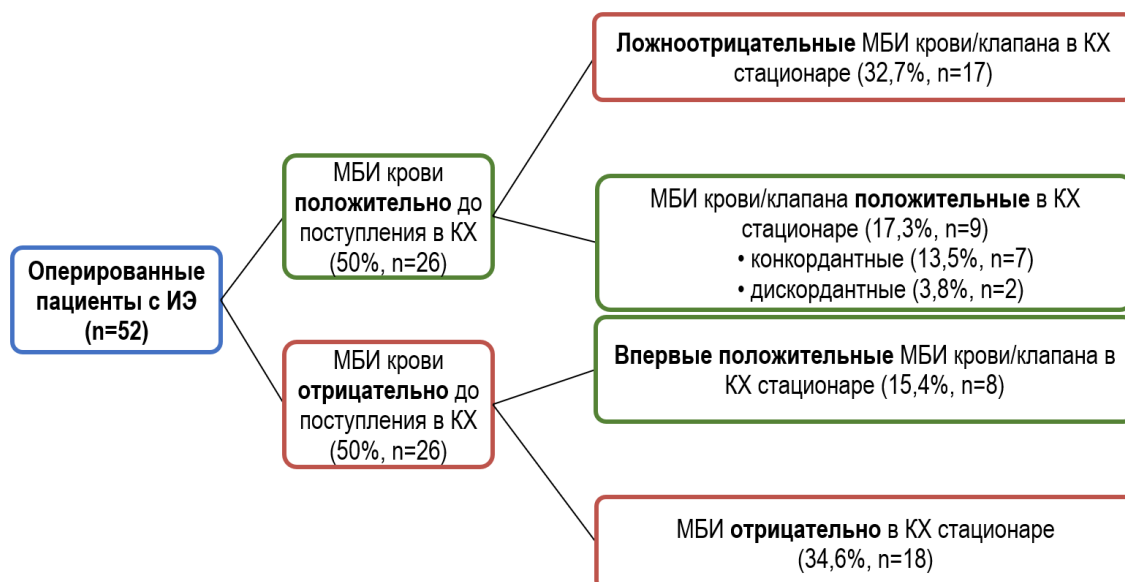
выявлено стрептококков. Отдельно следует отметить, что при МБИ ткани клапана часто выявлялся *CoNS*. В одном случае (1,9%) имело место сочетание микроорганизмов при МБИ ткани клапана.

Таблица 15 – Результаты МБИ венозной крови и тканей клапана в кардиохирургическом стационаре (n=52)

Возбудитель	МБИ крови в кардиохирургическом стационаре	МБИ ткани клапана
<i>Staphylococcus spp.</i>		
<i>S. aureus</i>	2 (3,8)	3 (5,8)
• <i>MSSA</i>	2 (3,8)	3 (5,8)
• <i>MRSA</i>	0 (0)	1 (1,9)
<i>CoNS</i>	1 (1,9)	6 (11,5)
• <i>S. epidermidis</i>	1 (1,9)	5 (9,6)
• <i>S. capitis</i>	0 (0)	1 (1,9)
<i>Enterococcus spp.</i>		
<i>Ent. faecalis</i>	5 (9,6)	4 (7,7)
Другие возбудители		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 (1,9)	1 (1,9)
Полифлора		
<i>S. aureus</i> + <i>CoNS</i>	0 (0)	1 (1,9)
Всего	9 (17,3)	15 (28,8)

Примечание – МБИ – микробиологическое исследование, *MSSA* – чувствительный к метициллину *S. aureus*, *MRSA* – устойчивый к метициллину *S. aureus*, *CoNS* – коагулазонегативный стафилококк.

При сопоставлении результатов МБИ на разных этапах исследования получено, что полное совпадение выявленных микроорганизмов с результатами параллельных МБИ крови/клапана при поступлении отмечалось только в 13,5% (n=7) случаев (Рисунок 4, Таблица 16). Дополнительно у 15,4% (n=8) пациентов возбудитель был впервые выявлен при МБИ крови/клапана в кардиохирургическом стационаре.



Примечание – МБИ – микробиологическое исследование, КХ – кардиохирургический стационар.

Рисунок 4 – Результаты микробиологических методов этиологической диагностики в зависимости от времени выполнения исследования.

Конкордантные результаты МБИ на разных этапах диагностики наблюдались лишь в 13,5% (n=7) случаев (Таблица 16).

Таблица 16 – Конкордантные результаты МБИ венозной крови до поступления и в кардиохирургическом стационаре (n=7)

n (%)	МБИ крови до поступления в кардиохирургический стационар	МБИ крови в кардиохирургическом стационаре	МБИ ткани клапана
3 (42,9)	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>
1 (14,3)	<i>S. aureus MSSA</i>	<i>S. aureus MSSA</i>	<i>S. aureus MSSA</i>
1 (14,3)	<i>S. epidermidis CoNS</i>	<i>CoNS</i>	<i>S. epidermidis CoNS</i>
1 (14,3)	<i>S. epidermidis CoNS</i>	0	<i>S. epidermidis CoNS</i>
1 (14,3)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Примечание – МБИ – микробиологическое исследование, *CoNS* – коагулазонегативный стафилококк.

В 48,1% (n=25) случаев возбудитель выявлен при МБИ только одного биологического материала (крови или ткани клапана) в зависимости от времени выполнения исследования (Таблица 17). Среди них у большинства пациентов в 32,7% (n=17) рост микроорганизмов выявлен только при МБИ венозной крови, выполненном на раннем этапе до кардиохирургического стационара. Отсутствие выявления возбудителя ИЭ в данной группе пациентов при параллельных МБИ венозной крови и ткани клапана в кардиохирургическом стационаре, вероятно, обусловлено снижением чувствительности МБИ на фоне длительной дооперационной АБТ.

Таблица 17 – Несовпадение результатов МБИ крови/клапана на разных этапах диагностики (n=25)

n (%)	МБИ крови до поступления в кардиохирургический стационар	МБИ крови в кардиохирургическом стационаре	МБИ ткани клапана
17 (32,7)	<i>S. aureus</i> MSSA (n=8)	0	0
	<i>CoNS</i> (n=2)	0	0
	<i>Ent. faecalis</i> (n=2)	0	0
	<i>Str. mitis</i> (n=2)	0	0
	<i>Str. mutans</i> (n=1)	0	0
	<i>Str. infantis</i> (n=1)	0	0
	<i>Str. pneumoniae</i> (n=1)	0	0
2 (3,8)	0	<i>S. aureus</i> (n=1)	0
	0	<i>Ent. faecalis</i> (n=1)	0
6 (11,5)	0	0	<i>CoNS</i> (n=3)
	0	0	<i>S. aureus</i> + <i>CoNS</i> (n=1)
	0	0	<i>S. aureus</i> (n=2)

Примечание – МБИ – микробиологическое исследование, *CoNS* – коагулазонегативный стафилококк.

Отдельно следует отметить дискордантные результаты МБИ в зависимости от времени выполнения и вида исследуемого биологического материала у 3,8% (n=2) обследуемых (Таблица 18). У одного пациента выявление *CoNS* только при

МБИ ткани клапана может быть связано с контаминацией образца на преаналитическом этапе, тогда как в крови выявлен более типичный для ИЭ возбудитель.

В другом случае при МБИ в крови и клапане на разных этапах диагностики выявлены разные возбудители, оба из которых являются типичными для ИЭ. Изменение микробиологического профиля, может быть, связано как с ошибками в выполнении МБИ крови на раннем этапе, так и с присоединением другого возбудителя (*Ent. faecalis*) в процессе течения ИЭ. В связи с чем выявление истинного возбудителя в указанном случае не представляется возможным (Таблица 18).

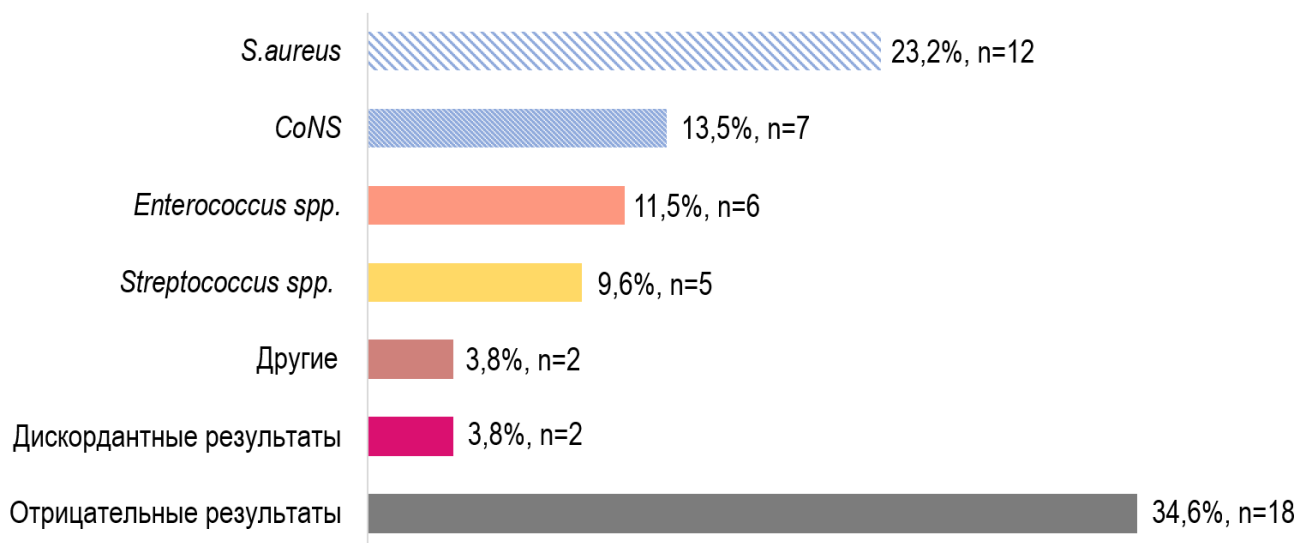
Таблица 18 – Дискордантные результаты МБИ крови/клапана на разных этапах диагностики (n=2)

п (%)	МБИ крови до поступления в кардиохирургический стационар	МБИ крови в кардиохирургическом стационаре	МБИ ткани клапана
2 (3,8)	<i>S. aureus</i> (n=1)	0	<i>CoNS</i> (n=1)
	<i>Str. mutans</i> (n=1)	<i>Ent. faecalis</i> (n=1)	<i>Ent. faecalis</i> (n=1)

Примечание – МБИ – микробиологическое исследование, *CoNS* – коагулазонегативный стафилококк.

При анализе общей этиологической структуры ИЭ по данным МБИ наиболее часто выявлялась группа *Staphylococcus spp.* (36,5%), с преобладанием *S. aureus* (23,2%) и *CoNS* (13,5%) (Рисунок 5). Более чем у трети обследуемых отмечался культуронегативный ИЭ.

Таким образом, МБИ крови/клапана, выполненное на разных этапах диагностики, было положительным у 65,4% (n=34) пациентов, при этом полное соответствие возбудителей отмечалось только у 20,6% (n=7/34) пациентов. Впервые в кардиохирургическом стационаре МБИ крови/клапана выявлен возбудитель у 15,3% (n=8/52). Следует отметить, что в пробах венозной крови преобладал рост *S. aureus* (17,3%, n=9/52), а в тканях клапана – *CoNS* (5,8%, n=3/52).



Примечание – *CoNS* – коагулазонегативный стафилококк. В другие включены *S. aureus* + *CoNS* (n=1), *Pseudomonas aeruginosa* (n=1).

Рисунок 5 – Общая этиологическая структура по данным микробиологического исследования венозной крови и тканей клапана у оперированных пациентов с ИЭ на всех этапах диагностики

3.2 Этиологическая структура возбудителей ИЭ по данным молекулярно-биологических исследований

В кардиохирургическом стационаре всем пациентам с ИЭ (n=52, 100%) дополнительно к МБИ венозной крови и тканей иссеченного клапана параллельно одновременно выполнено ПЦР-исследование крови и ткани клапана.

В результате применения молекулярно-биологических методов для этиологической лабораторной диагностики ИЭ получены положительные результаты при исследовании венозной крови у 20/52 (38,5%) пациентов, тканей иссеченных клапанов – у 39/52 (75,0%) пациентов. Этиологическая структура ИЭ по данным молекулярно-биологических методов представлена в Таблице 19.

Во всех случаях положительного ПЦР-исследования венозной крови (38,5%, n=20) получены идентичные возбудители при ПЦР-исследовании ткани клапана (Таблица 20), преимущественно представленные *S. aureus* MSSA (50,0%, n=10/20).

Таблица 19 – Результаты параллельных молекулярно-биологических методов крови и тканей клапанов у пациентов с ИЭ (n=52)

Возбудитель	ПЦР крови	ПЦР ткани клапана
<i>Staphylococcus spp.</i> (n=21, 40,4%)		
<i>S. aureus</i>	10 (19,2)	18 (34,6)
<i>MSSA</i>	10 (19,2)	15 (28,8)
<i>MRSA</i>	0 (0)	3 (5,8)
<i>CoNS</i>	3 (5,8)	3 (5,8)
<i>S. epidermidis</i>	2 (3,8)	2 (3,8)
<i>S. lugdunensis</i>	1 (1,9)	1 (1,9)
<i>Enterococcus spp.</i> (n=5, 9,6%)		
<i>Ent. faecalis</i>	2 (3,8)	4 (7,7)
<i>Ent. durans</i>	0 (0)	1 (1,9)
<i>Streptococcus spp.</i> (n=3, 5,8%)		
<i>Str. gallolyticus</i>	0 (0)	1 (1,9)
<i>Str. mitis</i>	0 (0)	1 (1,9)
<i>Str. infantis</i>	0 (0)	1 (1,9)
Другие возбудители (n=5, 9,6%)		
<i>Bartonella spp.</i>	3 (5,8)	3 (5,8)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 (1,9)	1 (1,9)
<i>Granulicatella adiacence</i>	0 (0)	1 (1,9)
Полифлора (n=5, 9,6%)		
<i>Ent. faecalis</i> + <i>S. aureus MSSA</i>	1 (1,9)	4 (7,7)
<i>Str. gallolyticus</i> + <i>S. aureus MSSA</i>	0 (0)	1 (1,9)
Всего	20 (38,5)	39 (75,0)

Примечание – *MSSA* – чувствительный к метициллину *S. aureus*, *MRSA* – устойчивый к метициллину *S. aureus*, *CoNS* – коагулазонегативный стафилококк.

Таблица 20 – Конкордантные результаты параллельных ПЦР-исследования венозной крови и ткани клапана в кардиохирургическом стационаре (n=20)

n (%)	ПЦР-исследование крови	ПЦР-исследование клапана
10 (19,2)	<i>S. aureus MSSA</i>	<i>S. aureus MSSA</i>
3 (5,8)	<i>CoNS</i>	<i>CoNS</i>

3 (5,8)	<i>Bartonella spp.</i>	<i>Bartonella spp.</i>
2 (3,8)	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>
1 (1,9)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1 (1,9)	<i>Ent. faecalis</i> + <i>S. aureus</i> MSSA	<i>Ent. faecalis</i> + <i>S. aureus</i> MSSA

Примечание – MSSA – чувствительный к метициллину *S.aureus*, CoNS – коагулазонегативный стафилококк.

Таким образом, ПЦР-исследование крови/клапана было положительным в 75,0% (n=39) случаев, преимущественно при исследовании ткани клапана. Относительно низкая частота выявления возбудителя ПЦР-исследованием из крови, вероятно, связана с низким титром возбудителя в крови на фоне длительной АБТ. Кроме того, ПЦР-исследование крови/клапана позволило выявить редкие возбудители ИЭ – *Bartonella spp.* у 5,8% (n=3) обследуемых. Дискордантных результатов при исследовании разных биологических материалов методом ПЦР не наблюдалось. Отрицательный результат ПЦР-исследования отмечался в 25,0% (n=13) случаев.

3.3 Сравнение результатов этиологических исследований у оперированных пациентов с ИЭ (микробиологическое и молекулярно-биологическое исследование)

При сравнении результатов МБИ на всех этапах диагностики и молекулярно-биологических методов (ПЦР или ПЦР-исследование с последующим секвенированием по Сэнгеру) конкордантные результаты получены только у 42,3% (n=22) пациентов (Таблица 21). У двух пациентов имелось неполное соответствие, в одном случае обусловленное ошибкой фенотипирования стрептококкового ИЭ, в другом – помимо полного совпадения по основному возбудителю, выявлены разные дополнительные возбудители при МБИ клапана и ПЦР-исследовании крови и клапана.

Таблица 21 – Конкордантные результаты микробиологического исследования и ПЦР крови и тканей клапанов у оперированных пациентов ИЭ (n=22)

п (%)	МБИ крови (на всех этапах)	МБИ ткани клапана	ПЦР крови	ПЦР ткани клапана
Полное совпадение				
20 (38,5)	<i>S. aureus</i> MSSA	<i>S. aureus</i> MSSA	<i>S. aureus</i> MSSA	<i>S. aureus</i> MSSA
	<i>S. aureus</i> MSSA (n=3)	0	<i>S. aureus</i> MSSA (n=3)	<i>S. aureus</i> MSSA (n=3)
	<i>S. aureus</i> MSSA (n=3)	0	0	<i>S. aureus</i> MSSA (n=3)
	0	<i>S. aureus</i> MSSA	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>S. aureus</i> MSSA
	0	<i>S. aureus</i> MRSA	0	<i>S. aureus</i> MRSA
	<i>S. epidermidis</i> (CoNS) (n=2)	<i>S. epidermidis</i> (CoNS) (n=2)	<i>S. epidermidis</i> (CoNS) (n=2)	<i>S. epidermidis</i> (CoNS) (n=2)
	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>
	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i> + <i>S. aureus</i> MSSA	<i>Ent. faecalis</i> + <i>S. aureus</i> MSSA
	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>	0	<i>Ent. faecalis</i>
	<i>Ent. faecalis</i>	0	0	<i>S. aureus</i> MSSA + <i>Ent. faecalis</i>
	<i>Ent. faecalis</i> (n=2)	0	<i>S. aureus</i> MSSA (n=2)	<i>S. aureus</i> MSSA + <i>Ent. faecalis</i> (n=2)
	<i>Str. infantis</i>	0	0	<i>Str. infantis</i>
	<i>Str. mitis</i>	0	0	<i>Str. mitis</i>
<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>	
Неполное совпадение				
2 (3,8)	<i>Str. pneumoniae</i>	0	0	<i>Str. gallolyticus</i>
	0	<i>S. aureus</i> + <i>S. epidermidis</i> (CoNS)	0	<i>S. aureus</i> + <i>Str. gallolyticus</i>

Примечание – МБИ – микробиологическое исследование, MSSA – чувствительный к метициллину *S. aureus*, MRSA – устойчивый к метициллину *S. aureus*, CoNS – коагулазонегативный стафилококк.

В 13,5% (n=7) случаев отмечались дискордантные результаты как между двумя сравниваемыми методами, так и внутри одного метода в зависимости от вида исследуемого биологического материала. Из них у 6 пациентов удалось предположить контаминацию образца на преаналитическом этапе при выполнении МБИ, во всех случаях обусловленную выявлением коагулазонегативного стафилококка (*CoNS*) (Таблица 22).

Отдельно следует отметить результат МБИ крови на раннем этапе диагностики у одного пациента с выявлением *Str. mutans*, который относится к типичным возбудителям ИЭ. Однако при параллельных МБИ клапана и ПЦР-исследовании крови/клапана на позднем этапе, выявлен другой возбудитель (*Ent. faecalis*). Таким образом, получен истинно дискордантный результат – не удалось установить истинный возбудитель, в связи с выявлением разных типичных для ИЭ возбудителей при МБИ крови, не совпадающих с результатами МБИ клапана и ПЦР-исследованиями крови и клапана. Возможно, дискордантный результат связан с изменением микробиологического профиля у данного пациента, данный результат был исключен из последующего анализа.

Таблица 22 – Дискордантные результаты МБИ и ПЦР у оперированных пациентов ИЭ (n=7)

п (%)	МБИ крови (на всех этапах)	МБИ ткани клапана	ПЦР венозной крови	ПЦР ткани клапана
6 (11,5)	<i>S. epidermidis</i> (<i>CoNS</i>)	0	0	0
	<i>S. haemolysans</i> (<i>CoNS</i>)	0	<i>S. aureus MSSA</i>	<i>S. aureus MSSA</i>
	0	<i>S. epidermidis</i> (<i>CoNS</i>) (n=2)	0	<i>S. aureus</i> (n=2)
	0	<i>S. epidermidis</i> (<i>CoNS</i>)	<i>S. aureus MSSA</i>	<i>S. aureus MSSA</i>
	<i>S. aureus MSSA</i>	<i>S. capitis</i> (<i>CoNS</i>)	0	<i>S. aureus MSSA</i>
1 (1,9)	<i>Str. mutans</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>

Примечание – МБИ – микробиологическое исследование, *CoNS* – коагулазонегативный стафилококк, *MSSA* – чувствительный к метициллину *S. aureus*.

МБИ венозной крови возбудитель установлен у 9,6% (n=5) обследуемых. У одного пациента в 1/3 проб выявлен рост комменсала кожных покровов *S. epidermidis* (CoNS) при МБИ венозной крови, однако при повторных МБИ и ПЦР-исследовании возбудитель выявить не удалось, что, вероятно, было связано с контаминацией образца для МБИ крови на преаналитическом этапе (Таблица 23).

Таблица 23 – Положительные результаты МБИ крови при отрицательном ПЦР-исследовании у оперированных пациентов ИЭ (n=6)

n (%)	МБИ крови (на всех этапах)	МБИ ткани клапана	ПЦР крови	ПЦР ткани клапана
5 (9,6)	<i>S. aureus</i> MSSA (n=2)	0	0	0
	<i>Ent. faecalis</i>	0	0	0
	<i>Str. mitis</i>	0	0	0
	<i>Str. mutans</i>	0	0	0

Примечание – МБИ – микробиологическое исследование, CoNS – коагулазонегативный стафилококк, MSSA – чувствительный к метицилину *S. aureus*.

Впервые молекулярно-биологическим исследованием, при отрицательном МБИ венозной крови и ткани клапана, инфекционный агент установлен у 21,2% (n=11) пациентов (Таблица 24), в большинстве случаев представлен типичными возбудителями – стафилококками и энтерококками. Следует также отметить, что благодаря внедрению молекулярно-биологических методов удалось выявить редких возбудителей – *Bartonella spp.* у 5,8% (n=3) обследуемых пациентов.

Таблица 24 – Положительные результаты ПЦР-исследования при отрицательных результатах МБИ венозной крови и тканей клапана (n=11)

МБИ венозной крови (на всех этапах)	МБИ ткани клапана	ПЦР крови	ПЦР ткани клапана
0	0	<i>S. lugdunensis</i> (CoNS)	<i>S. lugdunensis</i> (CoNS)
0	0	<i>S. aureus</i> MSSA	<i>S. aureus</i> MSSA
0	0	<i>Bartonella spp.</i> (n=3)	<i>Bartonella spp.</i> (n=3)

0	0	0	<i>S.aureus MSSA (n=2)</i>
0	0	0	<i>S. aureus MRSA</i>
0	0	0	<i>Ent. faecalis</i>
0	0	0	<i>Ent. durans</i>
0	0	0	<i>Granulicatella adiacence</i>

Примечание – МБИ – микробиологическое исследование, CoNS – коагулазонегативный стафилококк, MSSA – чувствительный к метициллину *S. aureus*, MRSA – устойчивый к метициллину *S. aureus*.

У части пациентов мы показали возможность смены АБТ, учитывая возбудитель, выявленный при ПЦР-исследовании крови/клапана: в 3 случаях при ИЭ, вызванном *Bartonella spp.*, и у 1 пациента со стафилококковым ИЭ, осложненным рецидивом раннего протезного ИЭ (Таблица 25).

Таблица 25 – Изменение АБТ при выявлении возбудителя ПЦР-исследовани

Пациент	Клапан	МБИ	ПЦР	Дооперационная АБТ	АБТ изменена на основании найденного возбудителя
1	АК	0	<i>Bartonella spp.*</i>	Ванкомицин + Гентамицин	Доксициклин + Гентамицин
2	АК	0	<i>Bartonella spp.*</i>	Ванкомицин + Гентамицин	Доксициклин + Гентамицин
3	АК, МК	0	<i>Bartonella spp.*</i>	Ванкомицин + Гентамицин	Доксициклин + Гентамицин
4	ТК	0	<i>S. aureus (MSSA)†</i>	Цефтриаксон + Ванкомицин+ Флуконазол	Даптомицин + Цефтриаксон

Примечание – МБИ – микробиологическое исследование, ПЦР – полимеразная цепная реакция, АК – аортальный клапан, МК – митральный клапан, ТК – трикуспидальный клапан, MSSA – чувствительный к метициллину *S. aureus*, MRSA – устойчивый к метициллину *S. aureus*;

* - возбудитель выявлен при ПЦР-исследовании крови и ткани клапана;

† - возбудитель выявлен только при ПЦР-исследовании ткани клапана.

Отдельно следует отметить случаи доказанной контаминации образцов при МБИ как крови, так и ткани клапана у 13,5% (n=7) обследуемых, все представленные комменсалами кожных покровов *CoNS*, при этом при ПЦР-исследовании выявлен более типичный возбудитель (Таблица 26). У 1/7 пациента отмечался недостоверный результат МБИ венозной крови (положительна только 1/3 проб с выявлением *CoNS*), тогда как при ПЦР-исследовании возбудителя выявить не удалось.

Таблица 26 – Дискордантные результаты, признанные контаминацией образцов при МБИ крови/клапана (n=7)

п (%)	МБИ крови до поступления ¹	МБИ ткани клапана	ПЦР крови	ПЦР ткани клапана	Подтвержденный возбудитель
6 (11,5)	<i>S. haemolysans</i> (<i>CoNS</i>)*#	0	<i>S. aureus</i> MSSA	<i>S. aureus</i> MSSA	<i>S. aureus</i> MSSA
	<i>S. epidermidis</i> (<i>CoNS</i>)*#	0	0	0	0
	0	<i>S. epidermidis</i> (<i>CoNS</i>)#	0	<i>S. aureus</i> MSSA	<i>S. aureus</i> MSSA
	0	<i>S. epidermidis</i> (<i>CoNS</i>)#	0	<i>S. aureus</i> MRSA	<i>S. aureus</i> MRSA
	0	<i>S. epidermidis</i> (<i>CoNS</i>)#	<i>S. aureus</i> MSSA	<i>S. aureus</i> MSSA	<i>S. aureus</i> MSSA
	<i>S. aureus</i> MSSA	<i>S. capitis</i> (<i>CoNS</i>)#	0	<i>S. aureus</i> MSSA	<i>S. aureus</i> MSSA

Примечание – *CoNS* – коагулазонегативный стафилококк, *MSSA* – чувствительный к метициллину *S. aureus*, *MRSA* – устойчивый к метициллину *S. aureus*;

¹ – МБИ венозной крови в кардиохирургическом стационаре отрицательно во всех случаях, * – выявлен в 1/3 проб, # – контаминация образца на преаналитическом этапе.

Комплексная этиологическая диагностика МБИ и молекулярно-биологическим исследованием венозной крови и тканей иссеченных клапанов у оперированных пациентов с ИЭ позволила выявить возбудитель у 82,7% (n=43/52) пациентов (Таблица 27).

Таблица 27 – Результаты этиологических исследований у пациентов с ИЭ (n=52)

п (%)	МБИ крови (на всех этапах)	МБИ клапана	ПЦР крови	ПЦР клапана	Наиболее вероятный возбудитель
20 (38,5)	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
	<i>S. aureus</i> (n=3)	0	<i>S. aureus</i> (n=3)	<i>S. aureus</i> (n=3)	<i>S. aureus</i> (n=3)
	<i>S. aureus</i> (n=3)	0	0	<i>S. aureus</i> (n=3)	<i>S. aureus</i> (n=3)
	0	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
	0	<i>S. aureus</i>	0	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
	<i>CoNS</i> (n=2)	<i>CoNS</i> (n=2)	<i>CoNS</i> (n=2)	<i>CoNS</i> (n=2)	<i>CoNS</i> (n=2)
	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>
	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i> + <i>S. aureus</i>	<i>Ent. faecalis</i> + <i>S. aureus</i>	<i>Ent. faecalis</i> + <i>S. aureus</i>
	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>	0	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>
	<i>Ent. faecalis</i>	0	0	<i>Ent. faecalis</i> + <i>S. aureus</i>	<i>Ent. faecalis</i> + <i>S. aureus</i>
	<i>Ent. faecalis</i> (n=2)	0	<i>S. aureus</i> (n=2)	<i>Ent. faecalis</i> + <i>S. aureus</i> (n=2)	<i>Ent. faecalis</i> + <i>S. aureus</i> (n=2)
	<i>Str. infantis</i>	0	0	<i>Str. infantis</i>	<i>Str. infantis</i>
	<i>Str. mitis</i>	0	0	<i>Str. mitis</i>	<i>Str. mitis</i>
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>
2 (3,8)	<i>Str. pneumoniae</i>	0	0	<i>Str. gallolyticus</i>	<i>Str. gallolyticus</i>
	0	<i>S. aureus</i> + <i>S. epidermidis</i> (<i>CoNS</i>)	0	<i>S. aureus</i> + <i>Str. gallolyticus</i>	<i>S. aureus</i> + <i>Str. gallolyticus</i>
5 (9,6)	<i>S. aureus</i> (n=2)	0	0	0	<i>S. aureus</i> (n=2)
	<i>Ent. faecalis</i>	0	0	0	<i>Ent. faecalis</i>
	<i>Str. mitis</i>	0	0	0	<i>Str. mitis</i>
	<i>Str. mutans</i>	0	0	0	<i>Str. mutans</i>
11 (21,2)	0	0	<i>S. lugdunensis</i> (<i>CoNS</i>)	<i>S. lugdunensis</i> (<i>CoNS</i>)	<i>S. lugdunensis</i> (<i>CoNS</i>)
	0	0	<i>Bartonella</i> <i>spp.</i> (n=3)	<i>Bartonella spp.</i> (n=3)	<i>Bartonella spp.</i> (n=3)
	0	0	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
	0	0	0	<i>S. aureus</i> (n=3)	<i>S. aureus</i> (n=3)
	0	0	0	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>

	0	0	0	<i>Ent. durans</i>	<i>Ent. durans</i>
	0	0	0	<i>Granulicatella adiacence</i>	<i>Granulicatella adiacence</i>
6 (11,5)	<i>S. epidermidis</i> (CoNS)	0	0	0	0
	<i>S. haemolysans</i> (CoNS)	0	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
	0	<i>S. epidermidis</i> (CoNS)(n=2)	0	<i>S. aureus</i> (n=2)	<i>S. aureus</i> (n=2)
	0	<i>S. epidermidis</i> (CoNS)	<i>S. aureus</i> MSSA	<i>S. aureus</i> MSSA	<i>S. aureus</i> MSSA
	<i>S. aureus</i> MSSA	<i>S. capitis</i> (CoNS)	0	<i>S. aureus</i> MSSA	<i>S. aureus</i> MSSA
1 (1,9)	<i>Str. mutans</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Str. mutans</i> // <i>Ent. faecalis</i>

Этиологическая структура ИЭ по данным МБИ и ПЦР-исследований крови и ткани клапана представлена в Таблице 28.

Таблица 28 – Этиологическая структура у оперированных пациентов с ИЭ

Возбудитель	n (%)
<i>Staphylococcus spp.</i> (n=23, 52,3%)	
<i>S. aureus</i>	20 (38,5)
MSSA	17 (32,7)
MRSA	3 (6,8)
CoNS	3 (6,8)
<i>S. epidermidis</i>	2 (4,5)
<i>S. lugdunensis</i>	1 (2,3)
<i>Enterococcus spp.</i> (n=5, 11,3%)	
<i>Enterococcus faecalis</i>	4 (7,7)
<i>Enterococcus durans</i>	1 (2,3)
<i>Streptococcus spp.</i> (n=5, 11,3%)	
<i>Str. mitis</i>	2 (4,5)
<i>Str. mutans</i>	1 (2,3)
<i>Str. gallolyticus</i>	1 (2,3)
<i>Str. infantis</i>	1 (2,3)
Другие (n=5, 11,4%)	
<i>Bartonella spp.</i>	3 (6,8)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 (2,3)

<i>Granulicatella adiacence</i>	1 (2,3)
Полифлора (n=5, 11,4%)	
<i>Ent. faecalis</i> + <i>S. aureus</i> MSSA	4 (7,7)
<i>Str. gallolyticus</i> + <i>S. aureus</i> MSSA	1 (2,3)
Всего	43/52 (82,7)

Примечание – *CoNS* – коагулазонегативный стафилококк, *MSSA* – чувствительный к метициллину *S. aureus*, *MRSA* – устойчивый к метициллину *S. aureus*.

Суммируя полученные данные, МБИ крови на всех этапах диагностики было положительным у 51,9% (n=27/52), МБИ клапана – у 26,9% (n=14/52), при этом подтвержден возбудитель только в 48,1% (n=25) и 19,2% (n=10) случаев, соответственно. ПЦР-исследование подтвердило ложноположительные результаты МБИ в 11,5%, во всех случаях представленные *CoNS*, и увеличило частоту выявления возбудителя ИЭ с 53,8% (n=28) до 82,7% (n=43).

3.4 Результаты этиологических исследований у оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ (микробиологическое и молекулярно-биологическое исследование крови и клапанов)

У оперированных пациентов с любыми пороками сердца, исключая ИЭ (n=50), результаты МБИ и ПЦР-исследования крови и ткани клапанов были отрицательными у 92,0% (n=46) пациентов. Положительные результаты наблюдались только при МБИ ткани клапана у 8,0% (n=4) пациентов, из них у 3/4 отмечалось выявление комменсалов кожных покровов *CoNS*, полифлоры или нетипичных для ИЭ возбудителей, что совместно с клиническими, гистологическими данными и отрицательными результатами параллельных МБИ крови и ПЦР-исследований позволило расценить данные результаты как контаминацию образцов на преаналитическом этапе. У 1/4 пациентов при МБИ ткани клапана выявлен рост *S. aureus*, однако отсутствие признаков ИЭ по

клиническим и гистологическим данным, отрицательные МБИ венозной крови и ПЦР-исследование, также свидетельствовали о контаминации исследуемого биологического материала при МБИ ткани клапана (Таблица 29).

Таблица 29 – Результаты параллельных одномоментных МБИ и ПЦР-исследований венозной крови и тканей иссеченных клапанов у пациентов с пороками сердца без ИЭ (n=50)

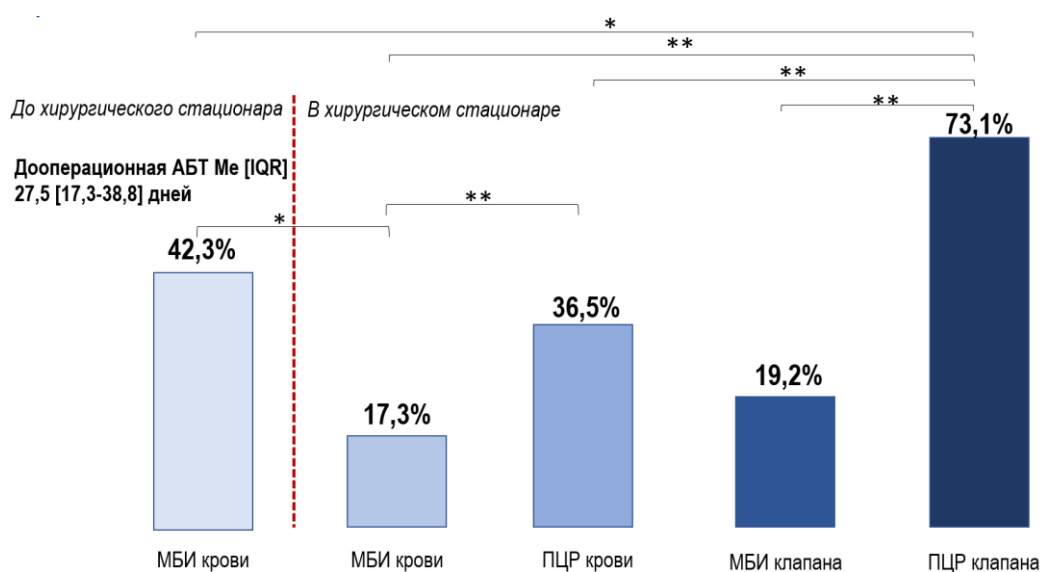
п (%)	МБИ венозной крови	МБИ ткани клапана	ПЦР венозной крови	ПЦР ткани иссеченного клапана	Признаки ИЭ по гистологии клапана
46 (92,0)	0	0	0	0	0
4 (8,0)	0	<i>S. aureus</i>	0	0	0
	0	<i>S. epidermidis</i> <i>CoNS</i> + <i>Str. parasanguinis</i>	0	0	0
	0	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	0	0	0
	0	<i>S. epidermidis</i> <i>CoNS</i>	0	0	0
Положительно, п (%)	0 (0)	4 (8,0)	0 (0)	0 (0)	0
из них контаминация, п (%)	0 (0)	4 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Примечание – МБИ – микробиологическое исследование, ПЦР – полимеразная цепная реакция, ИЭ – инфекционный эндокардит, *CoNS* – коагулазонегативный стафилококк.

Таким образом, ложноположительные результаты отмечались только при МБИ ткани клапана у 4 пациентов без ИЭ, связанных с ростом комменсалов кожных покровов *CoNS* и условно патогенной микрофлоры.

3.5 Определение чувствительности и специфичности изучаемых методов этиологической диагностики

При анализе результатов этиологических исследований в зависимости от времени выполнения, обращало внимание значительное снижение частоты положительных результатов МБИ крови (в 2,5 раза) до и после госпитализации в кардиохирургический стационар с 42,3% (n=22) до 17,3% (n=9) ($p < 0,05$) (Рисунок 6).



Примечание – МБИ – микробиологическое исследование, ПЦР – полимеразная цепная реакция;

* $p < 0,05$, ** $p < 0,001$ – значимость различий между группами.

Рисунок 6 – Чувствительность МБИ и ПЦР-исследований в зависимости от времени выполнения

При сравнении одномоментно проводимых МБИ и ПЦР-исследования крови/тканей резецированных клапанов, лучшую чувствительность продемонстрировало молекулярно-биологическое исследование, с большим преимуществом при изучении тканей резецированных клапанов [17,3% и 19,2% против 36,5% и 73,1%, $p < 0,001$, соответственно]. Более того, МБИ венозной крови, выполненное в ранние сроки диагностики до поступления в кардиохирургический

стационар оказалось сопоставимым по чувствительности с ПЦР-исследованием крови, выполненным в поздние сроки на фоне длительной АБТ, и значительно менее чувствительным в отношении ПЦР-исследования тканей резецированных клапанов [42,3% (n=22) и 36,5% (n=19), $p > 0,05$, против 73,1% (n=38), $p < 0,05$, соответственно] (Таблица 30, Рисунок 6). Следует отметить, что относительно низкая чувствительность ПЦР-исследования венозной крови в нашем исследовании, вероятно, связана с выполнением его на поздних сроках (при поступлении в кардиохирургический стационар).

Таблица 30 – Оценка значимости различий чувствительности параллельных этиологических исследований ИЭ

Исследование	МБИ венозной крови в хирургическом стационаре (n=9)	МБИ тканей клапана (n=10)	ПЦР венозной крови (n=20)	ПЦР ткани клапана (n=39)
МБИ венозной крови в хирургическом стационаре		$p=0,11$	$p=0,007^*$	$\chi^2=28,03$ $p=0,0001$
МБИ тканей клапана	$p=0,11$		$p=0,33$	$\chi^2=27,03$ $p=0,0001$
ПЦР венозной крови	$p=0,007^*$	$p=0,33$		$p=0,001^*$
ПЦР ткани клапана	$\chi^2=28,03$ $p=0,0001$	$\chi^2=27,03$ $p=0,0001$	$p=0,001^*$	

Примечание – МБИ – микробиологическое исследование, ПЦР – полимеразная цепная реакция; * – точный критерий Фишера.

При оценке чувствительности и специфичности изучаемых методов диагностики, наиболее точным оказалось ПЦР-исследование тканей иссеченного клапана: чувствительность составила 73,1%, специфичность – 100%, точность – 87,3%, ОПЦ – 79,4%, ППЦ – 100%. При ROC-анализе площадь под кривой (AUC) была наибольшей для ПЦР-исследования ткани клапана и составила 0,875, $p=0,0001$ (Рисунок 7, Таблица 31). Худшие результаты получены в отношении МБИ крови при выполнении отсрочено перед операцией: чувствительность составила

17,3%, специфичность – 100%, точность – 57,8%, ОПЦ – 53,8%, ППЦ – 100%, площадь под кривой (AUC) составила 0,587, $p=0,13$ (Рисунок 7, Таблица 31).

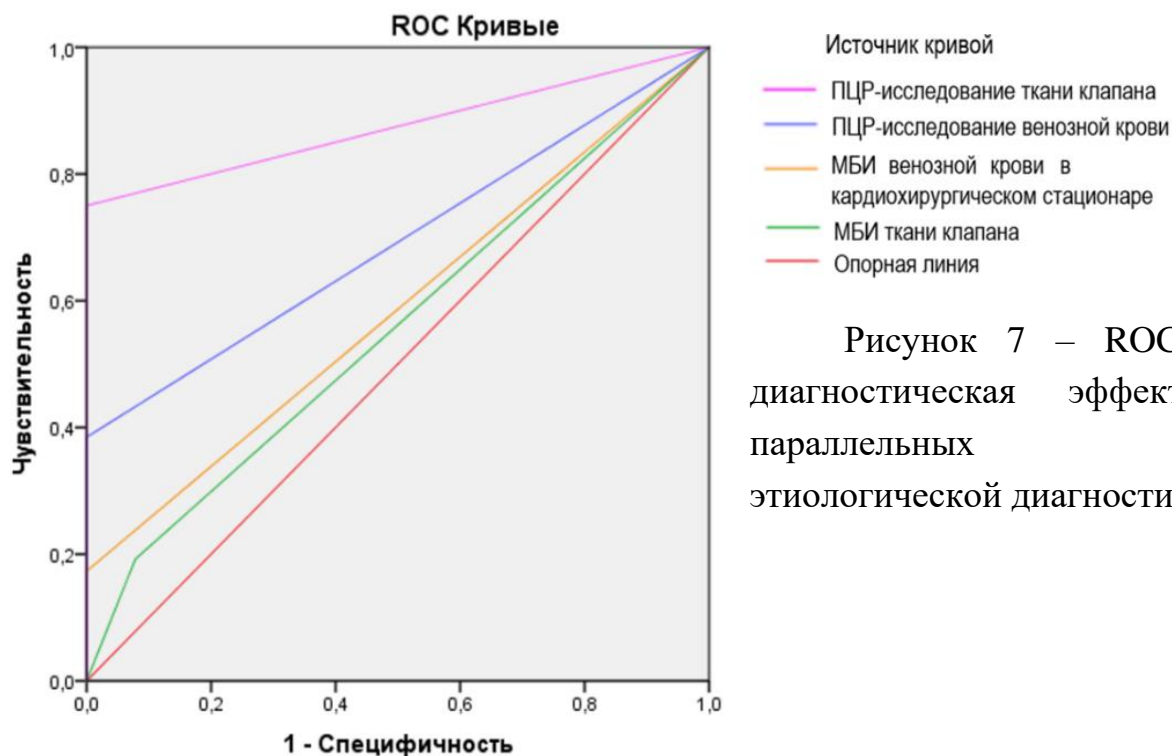


Рисунок 7 – ROC-анализ: диагностическая эффективность параллельных методов этиологической диагностики

Таблица 31 – Диагностическая эффективность параллельных методов этиологической диагностики

Показатель	МБИ крови при поступлении	МБИ клапана	ПЦР крови	ПЦР клапана
Чувствительность, (%)	17,3	26,9	36,5	73,1
Специфичность, (%)	100	92,0	100	100
Точность, (%)	57,8	59,8	68,6	87,3
ОПЦ, (%)	53,8	55,4	61,0	79,4
ППЦ, (%)	100	78,9	100	100
AUC, p	0,587 0,13	0,557 0,32	0,692 0,001	0,875 0,0001

Основываясь на полученных данных, чувствительность и специфичность параллельных МБИ венозной крови и ткани клапана практически не отличались друг от друга, но значительно уступали ПЦР-исследованию крови и ткани клапана. Следует отметить, что даже при отсроченном выполнении ПЦР-исследования

венозной крови, оно показало большую чувствительность, чем МБИ венозной крови и ткани клапана, выполненные в те же сроки.

3.5.1 Анализ чувствительности изучаемых методов в зависимости от локализации вегетаций и возбудителя у оперированных пациентов с ИЭ

При сравнении чувствительности этиологических методов в зависимости от локализации ИЭ, отмечалась в целом высокая чувствительность ПЦР-исследования ткани клапана не зависимо от локализации ИЭ и возбудителя по сравнению с МБИ крови/клапана (Таблица 32).

Таблица 32 – Чувствительность параллельных этиологических методов у оперированных пациентов с ИЭ (n=52)

Параметр	МБИ крови (1)	МБИ клапана (2)	ПЦР крови (3)	ПЦР клапана (4)	р
Подострый ИЭ	16,0	16,0	32,0	70,0	p < 0,05 ¹⁻⁴ p < 0,05 ²⁻⁴ p < 0,05 ³⁻⁴
Локализация ИЭ					
АК	15,0	23,0	46,0	77,0	p < 0,05 ¹⁻⁴
МК	8,0	8,0	46,0	69,0	p < 0,05 ¹⁻⁴ p < 0,05 ²⁻⁴
ТК	19,0	19,0	31,0	69,0	p > 0,05
> 2 клапанов	30,0	30,0	30,0	90,0	p > 0,05
Тип клапана					
Нативный	16,0	18,0	38,0	76,0	p < 0,05 ¹⁻⁴ p < 0,05 ²⁻⁴
Протезированный	33,0	33,0	67,0	67,0	p > 0,05
Возбудитель					
<i>Staphylococcus spp.</i>	19,0	22,0	48,0	93,0	p < 0,05 ¹⁻⁴ p < 0,05 ²⁻⁴ p < 0,05 ³⁻⁴
<i>S. aureus</i>	14,0	18,0	37,0	90,0	p < 0,05 ¹⁻⁴ p < 0,05 ²⁻⁴ p < 0,05 ³⁻⁴
<i>Streptococcus spp.</i>	0	14,0	0	71,0	p > 0,05
<i>Enterococcus spp.</i>	50,0	40,0	50,0	90,0	p > 0,05

<i>Bartonella spp.</i>	0	0	100	100	p > 0,05
------------------------	---	---	-----	-----	----------

Примечание – МБИ – микробиологическое исследование, ПЦР – полимеразная цепная реакция.

Таким образом, ПЦР-исследование ткани клапана показало преимущество в выявлении возбудителя при левосторонней локализации ИЭ нативного клапана, вызванного *Staphylococcus spp.* Даже при подостром течении ИЭ, при длительности более 56 дней от первых симптомов до операции, ПЦР-исследование ткани клапана сохраняло высокую чувствительность.

3.5.2 Влияние антибактериальной терапии на чувствительность методов этиологической диагностики у оперированных пациентов с ИЭ

Для оценки влияния АБТ на результаты этиологической диагностики ИЭ, пациенты были разделены в зависимости от длительности дооперационной АБТ на 2 группы: группа 1 – АБТ менее 28 дней (n=29, 55,8%), группа 2 – АБТ ≥ 29 дней (n=23, 44,2%) (Таблица 33).

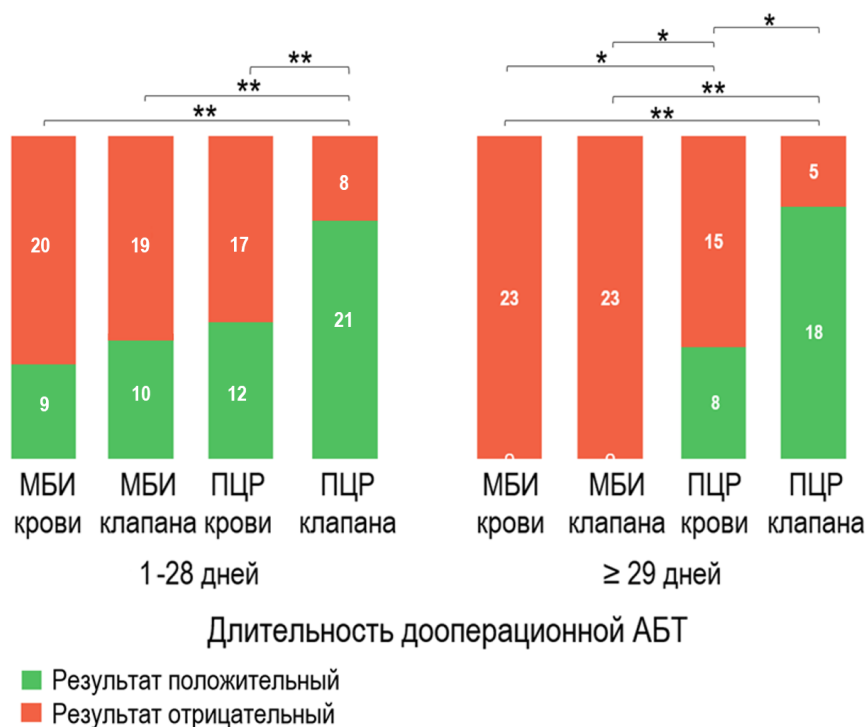
Таблица 33 – Результаты параллельных методов этиологической диагностики ИЭ в зависимости от длительности дооперационной АБТ

Длительность АБТ	Всего пациентов	Положительные результаты МБИ		Положительные результаты ПЦР		p
		кровь, n (%) (1)	клапан, n (%) (2)	кровь, n (%) (3)	клапан, n (%) (4)	
1-28 дней	29	9 (31,0)	10 (34,5)	12 (41,4)	21 (72,4)	p < 0,01 ¹⁻⁴ p < 0,01 ²⁻⁴ p < 0,01 ³⁻⁴
≥ 29 дней	23	0 (0)*	0 (0)*	7 (30,4)	17 (73,9)	p < 0,01 ¹⁻⁴ p < 0,01 ¹⁻³ p < 0,01 ²⁻³ p < 0,01 ²⁻⁴ p < 0,01 ³⁻⁴
Итого, n	52	9 (17,3)	10 (19,2)	19 (36,5)	38 (73,1)	

Примечание – АБТ – антибактериальная терапия, МБИ – микробиологическое исследование, ПЦР – полимеразная цепная реакция,

* – значимость различий между группой с АБТ < 29 дней (p < 0,01).

В группе 1 имелись сопоставимые результаты МБИ крови/тканей клапанов и ПЦР-исследования крови, в то время как ПЦР-исследование тканей клапанов продемонстрировало значимо лучшую чувствительность [31,0% и 34,5% и 41,4% ($p > 0,05$), против 72,4% ($p < 0,001$), соответственно]. В группе 2 результаты МБИ крови/тканей резецированных клапанов оказались отрицательными у всех пациентов, тогда как ПЦР-исследования крови/тканей резецированных клапанов сохраняли высокую чувствительность [0% и 0%, против 30,4% и 73,9%, $p < 0,01$, соответственно] (Таблица 33, Рисунок 8).



Примечание – АБТ – антибактериальная терапия, МБИ – микробиологическое исследование, ПЦР – полимеразная цепная реакция;

* $p < 0,01$, ** $p < 0,001$ – значимость различий между группами.

Рисунок 8 – Сравнение результатов параллельных методов этиологической диагностики ИЭ в зависимости от длительности дооперационной АБТ

Более того, было отмечено, что ПЦР-исследование тканей резецированных клапанов продемонстрировало большую чувствительность по сравнению с ПЦР-исследованием венозной крови [73,9% против 30,4%, соответственно, $p < 0,01$].

Также для МБИ крови/тканей резецированных клапанов наблюдалась самая короткая продолжительность АБТ, при которой были получены положительные результаты исследований [Me (IQR) 20 (17,5-24,5) и 20 (15,5-24,0), $p > 0,05$, соответственно], в то время как ПЦР-исследования крови/тканей резецированных клапанов оставались положительными при большей длительности АБТ, однако различия были не значимыми [Me (IQR) 24 (16,0-35,3) и 27 (17,0-40,0), $p > 0,05$, соответственно] (Таблица 34).

Таким образом, чувствительность МБИ снижалась с большей длительностью дооперационной АБТ. Чувствительность ПЦР-исследования не зависела от вида биологического материала и в меньшей степени зависела от длительности АБТ, что представляет весомое преимущество для оперированных пациентов с ИЭ, позволяя выявлять возбудителя на фоне предшествующей АБТ.

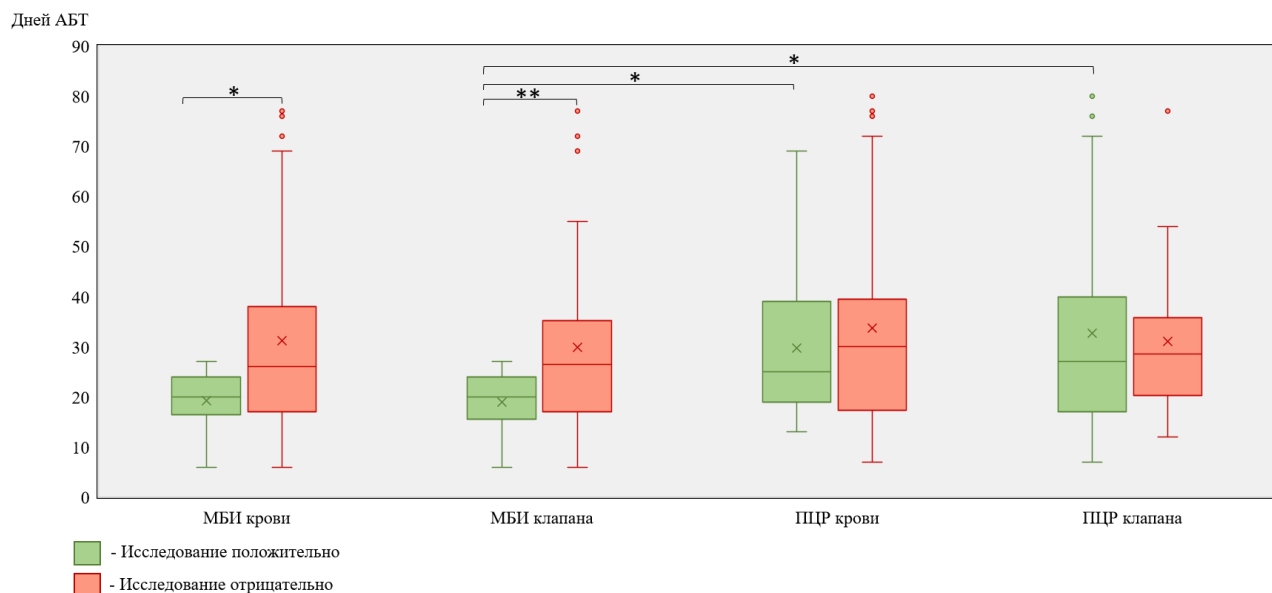
Таблица 34 – Эффективность параллельных методов этиологической диагностики в зависимости от длительности дооперационной АБТ

Метод диагностики	Дооперационная АБТ, дни	
	исследование положительно, Me [IQR]	исследование отрицательно, Me [IQR]
МБИ венозной крови	20,0 [17,5-24,5]*	26,0 [17,0-38,3]
МБИ ткани клапана	20,0 [15,5-24,0]**	26,5 [17,0-35,3]
ПЦР венозной крови	24,0 [16,0-35,3]	30,0 [17,3-39,5]
ПЦР ткани клапана	27,0 [17,0-40,0]	28,5 [20,3-35,8]
Этиология ИЭ всеми методами	26,0 [16,0-40,0]	29,0 [21,5-36,5]

Примечание – АБТ- антибактериальная терапия, МБИ – микробиологическое исследование, ПЦР – полимеразная цепная реакция; значимость различий между группой с отрицательными результатами исследования * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

Таким образом, при сравнении чувствительности параллельных методов этиологической диагностики ИЭ у оперированных пациентов в зависимости от

длительности дооперационной АБТ, лучший результат показали молекулярно-биологические исследования, в особенности ПЦР-исследование тканей резецированных клапанов. ПЦР-исследования венозной крови/тканей резецированных клапанов определяли этиологическую принадлежность ИЭ значительно чаще и при большей длительности АБТ, чем МБИ (Рисунок 9).



Примечание – МБИ – микробиологическое исследование, ПЦР – полимеразная цепная реакция;

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ – значимость различий между группами.

Рисунок 9 – Эффективность параллельных методов этиологической диагностики в зависимости от длительности дооперационной антибактериальной терапии

3.6 Прогностическая ценность наличия и количества нейтрофильных внеклеточных ловушек в крови у оперированных пациентов с ИЭ

3.6.1 Уровень нейтрофильных внеклеточных ловушек у оперированных пациентов с ИЭ в зависимости от клинико-демографических характеристик, локализации ИЭ, возбудителей и осложнений

Уровень нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) изучен у 46 оперированных пациентов с ИЭ при поступлении (НВЛ 1) в кардиохирургический стационар и в динамике через 7 дней (НВЛ 2) методом автоматической

микроскопии (Рисунок 10). Не было различий в уровне НВЛ до и после операции у пациентов с ИЭ (Me [IQR]) 4,2% [2,0-6,2] против 4,3% [2,3-6,2], $p > 0,05$.

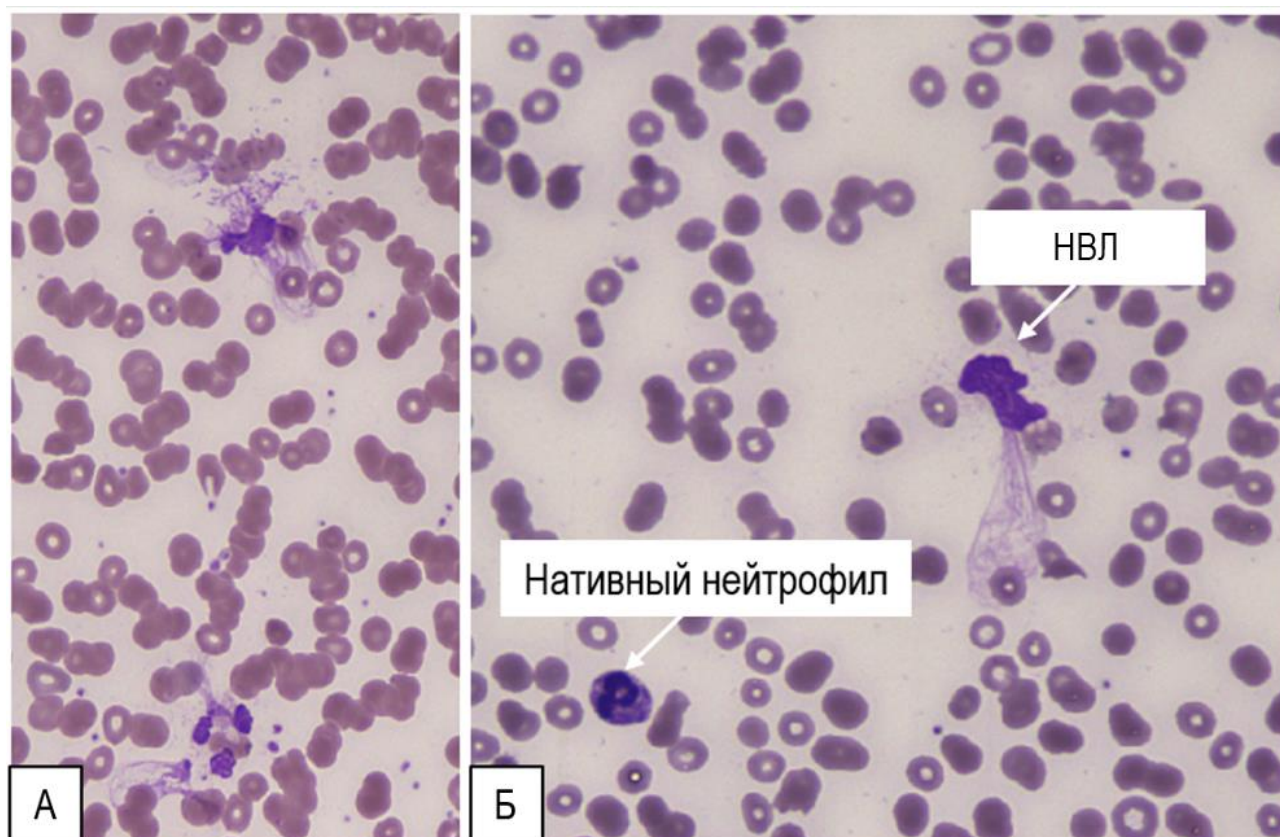


Рисунок 10 – А-Б – НВЛ у больных ИЭ (окраска по Романовскому-Гимзе ($\times 500$))

Проанализированы различия между уровнями НВЛ при поступлении (Таблица 35) и в динамике через 7 дней (Таблица 36) в зависимости от клиничко-демографических особенностей, размеров вегетаций, локализации, связи с возбудителем и осложненным течением ИЭ в до- и послеоперационном периоде. Так было отмечено, что у пациентов с осложненным течением ИЭ, внутрисердечными осложнениями, увеличением регургитации на клапане уровень НВЛ при поступлении был значимо выше, чем у пациентов с ИЭ, без данных осложнений ($p < 0,05$) (Таблица 36).

Таблица 35 – Сравнение уровня НВЛ у оперированных пациентов с ИЭ при поступлении в зависимости от возбудителя и осложненного течения ИЭ (n=46)

Признак	Уровень НВЛ 1, %, Me (min-max)	
	есть признак	нет признака
Осложненное течение ИЭ до операции		
Осложненное течение ИЭ на фоне АБТ	4,9 (0,7-28,5)*	1,15 (0,3-6,2)*
Эмболические осложнения	4,8 (0,4-28,5)	4,2 (0,3-25,1)
▪ в головной мозг	5,0 (2,1-6,2)	4,2 (0,3-28,5)
▪ в селезенку	5,1 (0,5-18,2)	4,2 (0,3-28,5)
▪ в легкие	3,4 (0,4-28,5)	4,8 (0,3-25,1)
Внутрисердечные осложнения	4,8 (0,4-28,5)*	1,3 (0,3-6,2)*
Увеличение степени регургитации на клапане	4,9 (0,4-28,5)*	2,0 (0,3-6,3)*
Этиология ИЭ		
Возбудитель ИЭ не установлен	3,7 (0,5-7,6)	4,2 (0,3-28,5)
<i>Staphylococcus spp.</i>	3,7 (0,7-28,5)	4,2 (0,3-18,9)
<i>S. aureus</i>	3,7 (0,7-28,5)	4,6 (0,3-25,1)
<i>Streptococcus spp.</i>	5,0 (1,5-15,7)	4,2 (0,3-28,5)
<i>Enterococcus spp.</i>	3,7 (0,3-18,9)	4,9 (0,5-28,5)
<i>Bartonella spp.</i>	4,2 (2,4-9,2)	4,5 (0,3-28,5)
Несколько возбудителей	3,7 (1,5-5,1)	4,6 (0,3-28,5)

Примечание – ИЭ – инфекционный эндокардит, АБТ – антибактериальная терапия;

* $p < 0,05$ – значимость различий между группами.

В динамике уровень НВЛ 2 был значимо выше у лиц с осложнениями в послеоперационном периоде (кардиогенный шок, ишемический гепатит, уменьшение фракции выброса левого желудочка, сепсис) (Таблица 36).

Таблица 36 – Сравнение уровня НВЛ у оперированных пациентов с ИЭ в послеоперационном периоде в зависимости от осложненного течения ИЭ (n=46)

Признак	Уровень НВЛ 2, %, Me (min-max)	
	есть признак	нет признака
Осложненное течение ИЭ после операции		
Осложненное течение ИЭ на фоне АБТ	4,4 (1,0-26,6)	3,7 (1,8-6,8)
Кардиогенный шок	24,5 (22,4-26,6)**	4,2 (1,0-24,6)**
Ишемический гепатит	20,3 (5,2-26,6)**	4,2 (1,0-24,6)**
Уменьшение ФВ ЛЖ	17,1 (2,0-26,6)*	4,0 (1,0-24,6)*
Внутрибольничная летальность	18,2 (5,2-26,6)***	4,0 (1,0-24,6)***
Ранний протезный ИЭ (n=1)	24,6	4,3 (1,0-26,6)
Сепсис	12,6 (5,2-18,2)**	3,0 (0,6-25,6)**

Примечание – НВЛ – нейтрофильные внеклеточные ловушки, ИЭ – инфекционный эндокардит, АБТ – антибактериальная терапия, ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка;

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ – значимость различий между группами.

Была оценена корреляция между уровнем НВЛ и количественными клинико-демографическими данными, показателями общего анализа крови (гемоглобин, ширина распределения эритроцитов по объему, лейкоциты, нейтрофилы, тромбоциты, СОЭ) и уровнем С-реактивного белка (СРБ) в крови при поступлении и в динамике на 7-й день госпитализации. При поступлении отмечалась слабая положительная корреляционная связь НВЛ с уровнем лимфоцитов и СРБ (Таблица 37). В динамике прослеживалась слабая отрицательная корреляционная связь НВЛ с уровнем скорости клубочковой фильтрации (СКФ) по формуле СКД-ЕРІ, умеренная положительная корреляционная связь со скоростью оседания эритроцитов (СОЭ) (Таблица 37). Ухудшение функции почек со снижением СКФ связана с осложненным течением ИЭ, при котором наблюдались высокие уровни НВЛ. Чем длительнее были сроки постановки диагноза ИЭ и сроки госпитального лечения, тем выше были уровни НВЛ.

Таблица 37 – Корреляция уровня НВЛ с клиническими и лабораторно-инструментальными показателями у оперированных пациентов с ИЭ (n=46)

Показатель	Уровень НВЛ 1	Уровень НВЛ 2
Возраст, годы	$\rho=0,05, p=0,73$	$\rho=0,19, p=0,22$
ИМТ, кг/м ²	$\rho=-0,13, p=0,39$	$\rho=-0,05, p=0,73$
Гемоглобин, г/л	$\rho=0,09, p=0,55$	$\rho=-0,18, p=0,23$
RDW, %	$\rho=0,15, p=0,31$	$\rho=-0,04, p=0,81$
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	$\rho=0,15, p=0,32$	$\rho=0,21, p=0,17$
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л	$\rho=0,05, p=0,76$	$\rho=0,17, p=0,26$
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	$\rho=0,30, p=0,04$	$\rho=0,02, p=0,88$
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	$\rho=0,19, p=0,21$	$\rho=-0,16, p=0,28$
СОЭ, мм/ч	$\rho=0,30, p=0,13$	$\rho=0,58, p=0,001$
С-реактивный белок, мг/л	$\rho=0,34, p=0,03$	$\rho=0,27, p=0,99$
СКФ (по формуле СКД-ЕРІ) мл/мин/1,73м ²	$\rho=0,09, p=0,56$	$\rho=-0,30, p=0,04$
ФВ ЛЖ, %	$\rho=0,30, p=0,06$	$\rho=-0,23, p=0,12$
Длительность госпитализации, дни	$\rho=0,23, p=0,13$	$\rho=0,32, p=0,03$
Сроки от первых симптомов до диагноза, дни	$\rho=0,06, p=0,68$	$\rho=0,32, p=0,03$
Сроки от первых симптомов до операции, дни	$\rho=0,11, p=0,49$	$\rho=0,33, p=0,03$
Длительность дооперационной АБТ, дни	$\rho=0,20, p=0,18$	$\rho=0,17, p=0,25$
EuroSCORE II, баллы	$\rho=0,20, p=0,19$	$\rho=0,28, p=0,07$
Индекс Чарлсон, баллы	$\rho=0,09, p=0,55$	$\rho=0,19, p=0,21$
Уровень НВЛ (точка 1), %	-	$\rho=0,38, p=0,01$

Примечание – ИЭ – инфекционный эндокардит, НВЛ – нейтрофильные внеклеточные ловушки, ИМТ – индекс массы тела, RDW – ширина распределения эритроцитов по объему, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, СКФ – скорость клубочковой фильтрации, ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка, АБТ – антибактериальная терапия.

Отдельно была изучена корреляция уровня НВЛ с лабораторными показателями у пациентов с летальным исходом во время госпитализации, где показана сильная положительная корреляционная связь уровня НВЛ с RDW, лейкоцитами и нейтрофилами (Таблица 38).

Таблица 38 – Корреляция между уровнем НВЛ 2 и лабораторными показателями в крови у умерших пациентов ИЭ (n=5)

Значение	Нб	RDW	Лей	Ней	Лимф	Тр	СОЭ	СРБ
ρ Спирмена	-0,50	0,90	0,99	0,99	0,60	0,50	0,50	-0,50
p	0,39	0,04	0,01	0,01	0,29	0,39	0,67	0,67

Примечание – Нб – гемоглобин, RDW – ширина распределения эритроцитов по объему, Лей – лейкоциты, Ней – нейтрофилы, Лимф – лимфоциты, Тр – тромбоциты, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, СРБ – С-реактивный белок.

Таким образом, высокий уровень НВЛ у оперированных пациентов с ИЭ при поступлении был связан с осложненным течением ИЭ (внутрисердечными осложнениями, увеличением регургитации). В динамике уровень НВЛ 2 был значимо выше у лиц с осложненным послеоперационным периодом. Уровень НВЛ коррелировал с воспалительными маркерами в крови (лимфоцитозом, СОЭ и СРБ), а у пациентов с госпитальной летальностью при ИЭ с RDW, лейкоцитами и нейтрофилами.

3.6.2 Сравнение уровня нейтрофильных внеклеточных ловушек при поступлении и в динамике у пациентов с ИЭ, оперированных пациентов без ИЭ и группой сепсиса

При сравнении уровня НВЛ у пациентов с ИЭ и сепсисом как при поступлении (НВЛ 1), так и в динамике показатели не различались, однако уровень НВЛ в динамике через 7 дней после операции (НВЛ 2) был значимо выше, чем в группе оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ (Таблица 39).

Динамика уровня НВЛ у обследуемых в группе оперированных пациентов без ИЭ и незначимые изменения у пациентов с инфекцией (ИЭ и сепсис) свидетельствует об отсутствии вклада хирургического лечения в повышение этого показателя, тогда как уровень НВЛ может являться маркером инфекции.

Таблица 39 – Динамика уровня НВЛ в группе ИЭ, сепсиса и оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ

Группа	НВЛ 1 Me [IQR]	НВЛ 2 Me (IQR)
ИЭ	4,2 [2,0-6,2]	4,3 [2,3-6,2]*
Сепсис	4,4 [1,4-7,0]	4,8 [1,8-8,9]*
Оперированные с пороками сердца без ИЭ	3,4 [1,7-6,9]	2,9 [1,1-4,3]

Примечание – * $p < 0,05$ – значимость различий НВЛ в динамике через 7 дней после операции (НВЛ 2) с оперированными пациентами с пороками сердца без ИЭ.

3.6.3 Анализ прогностического значения нейтрофильных внеклеточных ловушек у оперированных пациентов с ИЭ

Прогностическая роль уровня НВЛ в отношении первичной комбинированной конечной точки (общая летальность и/или рецидив ИЭ)

Уровень НВЛ у пациентов, имевших события из первичной комбинированной конечной точки (ПКТ) [общая летальность от всех причин (n=7) и/или рецидив ИЭ (n=3) в течение 6 месяцев после операции] был значимо выше как при поступлении, так и в динамике, по сравнению с пациентами без этих осложнений, оперированными пациентами с пороками сердца без ИЭ и с сепсисом (Таблица 40).

Таблица 40 – Уровень НВЛ в зависимости от наличия событий из первичной комбинированной конечной точки (общая летальность и/или рецидив ИЭ в течение 6 месяцев после операции) у оперированных пациентов с ИЭ по сравнению с пациентами с сепсисом и пациентами с пороками без ИЭ

Показатель	ИЭ с событиями из ПКТ (1)	ИЭ без событий из ПКТ (2)	Оперированные с пороками сердца без ИЭ (3)	Сепсис (4)	p
НВЛ 1, Me [IQR]	7,2 [1,8-18,9]	3,9 [0,3-28,5]	3,4 [1,7-6,9]	4,4 [1,4-7,0]	p < 0,05 ¹⁻² p < 0,05 ¹⁻³
НВЛ 2, Me [IQR]	14,2 [3,0-26,6]	3,6 [0,6-24,6]	2,9 [1,1-4,3]	4,8 [1,8-8,9]	p < 0,01 ¹⁻² p < 0,001 ¹⁻³ p < 0,01 ¹⁻⁴

Для оценки прогностического значения НВЛ в отношении каждой из конечных точек проводился однофакторный анализ с разделением значений указанного показателя на квартили (Таблица 41).

При однофакторном анализе шансы наступления событий первичной комбинированной конечной точки (общая летальности и/или рецидив ИЭ в течение 6 месяцев после операции) не отличались в зависимости от значений НВЛ при поступлении и в динамике у оперированных пациентов с ИЭ (Таблица 41).

Таблица 41 – Влияние значений НВЛ в отношении первичной комбинированной конечной точки (общая летальность и/или рецидив ИЭ в течение 6 месяцев после операции) при ИЭ по данным однофакторного анализа

Квартиль	НВЛ 1		НВЛ 2	
	Значения	ОШ (95% ДИ)	Значения	ОШ (95% ДИ)
1	< 3,9%	0,33 (0,06-1,87)	< 6,3%	0,04 (0,01-0,27)
2	4,0-7,1%	0,64 (0,11-3,63)	6,4-14,1%	6,0 (0,70-51,10)
3	7,2-16,3%	2,83 (0,42-19,07)	14,2-21,3%	6,0 (0,70-51,10)
4	> 16,4%	6,0 (0,70-51,10)	> 21,4%	12,33 (0,96-158,08)

Прогностическая роль уровня НВЛ в отношении вторичной комбинированной конечной точки (госпитальная летальность от всех причин, эмболические и послеоперационные осложнения)

Пациенты с ИЭ, имеющие события из вторичной комбинированной конечной точки [госпитальная летальность от всех причин (n=6), эмболические (n=12) и послеоперационные осложнения (n=35)] значимо не отличались по уровню НВЛ по сравнению с обследуемыми с ИЭ без этих событий и пациентами с сепсисом, но был значимо выше, чем в группе оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ (Таблица 42).

Таблица 42 – Уровень НВЛ в зависимости от наличия событий из комбинированной конечной точки (госпитальная летальность от всех причин, эмболические и послеоперационные осложнения) у оперированных пациентов с ИЭ по сравнению с пациентами с сепсисом и группой контроля

Показатель	ИЭ с событиями	ИЭ без событий	Оперированные с пороками без ИЭ	Сепсис
НВЛ 1, Ме [IQR]	4,8 [0,4-28,5]	3,7 [1,5-5,5)	3,4 [1,7-6,9)	4,4 [1,4-7,0]
НВЛ 2, Ме [IQR]	4,4 [0,6-26,6]*	4,0 [2,4-4,9]	2,9 [1,1-4,3]*	4,8 [1,8-8,9]

Примечание – * $p < 0,05$ – значимость различий между группами.

При однофакторном анализе шансы наступления событий комбинированной конечной точки (госпитальная летальность от всех причин, эмболические и послеоперационные осложнения) также не отличались в зависимости от значений НВЛ при поступлении и в динамике у оперированных пациентов с ИЭ (Таблица 43).

Таблица 43 – Влияние значений НВЛ в отношении комбинированной конечной точки (госпитальная летальность от всех причин, эмболические и послеоперационные осложнения) при ИЭ по данным однофакторного анализа

Квартиль	НВЛ 1		НВЛ 2	
	значения	ОШ (95% ДИ)	значения	ОШ (95% ДИ)
1	< 2,1%	3,16 (0,88-11,43)	< 2,0%	0,24 (0,05-1,07)
2	2,2-4,7%	0,26 (0,03-2,18)	2,1-4,3%	2,73 (0,51-14,53)
3	4,8-6,2%	0,40 (0,05-3,36)	4,4-9,0%	2,08 (0,39-11,27)
4	> 6,3%	1,13 (0,27-4,66)	> 9,1%	0,78 (0,17-3,66)

Прогностическая роль уровня НВЛ в отношении госпитальной летальности

У пациентов с летальным исходом во время госпитализации отмечался более высокий уровень НВЛ как при поступлении, так и в динамике по сравнению с выжившими пациентами с ИЭ и оперированными пациентами с пороками сердца без ИЭ (Таблица 44).

Таблица 44 – Уровень НВЛ у оперированных пациентов в зависимости от госпитальной летальности по сравнению с оперированными пациентами с пороками сердца без ИЭ и сепсисом

Показатель	ИЭ с госпитальной летальностью (1)	ИЭ без госпитальной летальности (2)	Оперированные с пороками без ИЭ (3)	Сепсис (4)	Р
НВЛ 1, Ме [IQR]	9,2 [1,8-18,9]	4,2 [0,3-28,5]	3,4 [1,7-6,9]	4,4 [1,4-7,0]	$p < 0,05^{1-2}$ $p < 0,05^{1-3}$
НВЛ 2, Ме [IQR]	18,2 [5,2-26,6]	4,0 [1,0-26,6]	2,9 [1,1-4,3]	4,8 [1,8-8,9]	$p < 0,001^{1-2}$ $p < 0,001^{1-3}$

При анализе влияния значений НВЛ на госпитальную летальность у оперированных пациентов с ИЭ были продемонстрированы более высокие шансы наступления события при значении показателя в верхних квартилях по сравнению с нижними квартилями (Рисунок 11-12).

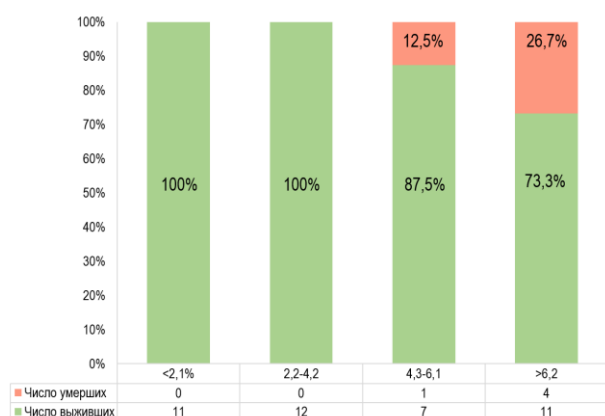


Рисунок 11 – Госпитальная летальность у пациентов с ИЭ в зависимости от значений НВЛ при поступлении (точка 1)

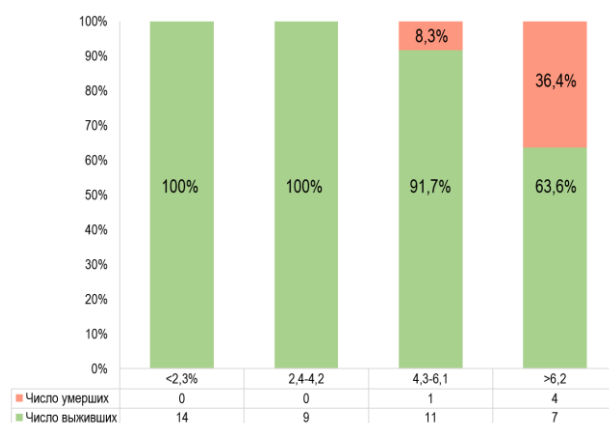


Рисунок 12 – Госпитальная летальность у пациентов с ИЭ в зависимости от значений НВЛ в динамике (точка 2)

При однофакторном анализе оценивались шансы наступления госпитальной летальности в зависимости от найденных квартилей (Таблица 45). Разница оказалась значимой только при исследовании значения НВЛ в динамике через 7 дней после операции (точка 2), которое было максимально близко к неблагоприятному событию (для квартиля 4 ОШ 19,43, 95% ДИ от 1,88 до 201,18, $p=0,01$) (Таблица 45).

Таблица 45 – Шансы развития госпитальной летальности при ИЭ в зависимости от значений НВЛ по данным однофакторного анализа

Показатель	ОШ	95% ДИ	p
НВЛ 1			
< 6,1%	0,24	0,04-1,67	0,31
≥ 6,2%	4,09	0,60-27,85	0,53
НВЛ 2			
< 6,1%	0,68	0,07-6,78	0,44
≥ 6,2%	19,43	(1,88-201,18)	0,01

При оптимальном соотношении чувствительности и специфичности было вычислено пороговое значение НВЛ в динамике через 7 дней после операции для

прогнозирования госпитальной летальности, составившее 11,2% и обладавшее чувствительностью 80% и специфичностью 90%, ППЦ 66,7%, ОПЦ 100%, площадь под кривой (AUC) составила 0,915, $p=0,003$ (Рисунок 13). Данное отрезное значение предсказывало развитие госпитальной летальности у оперированных пациентов с ИЭ с высокой точностью (ОШ 23,86, 95% ДИ от 1,65 до 344,84, $p=0,02$).

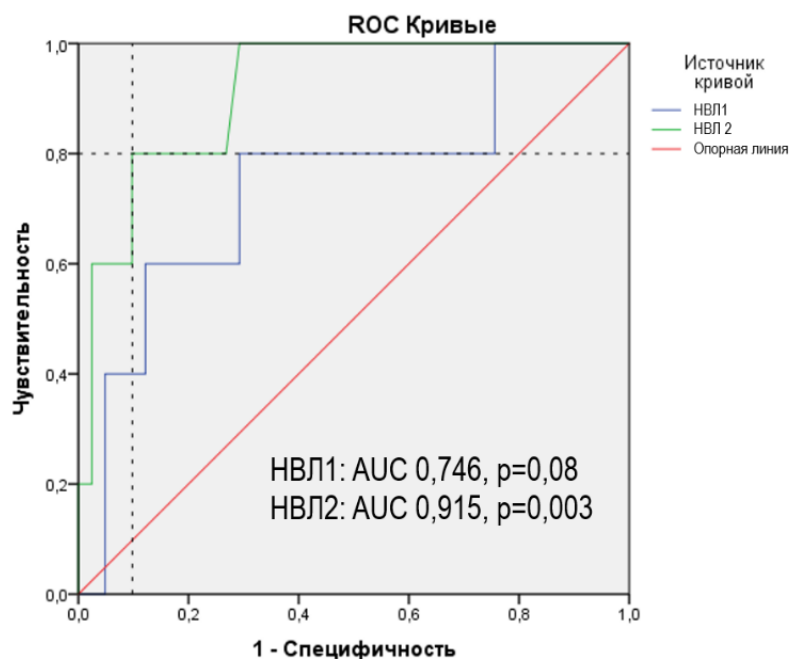


Рисунок 13 – Анализ ROC-кривой: связь значения НВЛ при поступлении и в динамике и госпитальной летальности у оперированных пациентов с ИЭ

Таким образом, показателями, связанными с госпитальной летальностью при ИЭ, были инфекционные осложнения (сепсис, рецидив ИЭ) и НВЛ 2 $\geq 11,2\%$ (Таблица 46).

Таблица 46 – Шансы развития госпитальной летальности при ИЭ по данным однофакторного анализа

Показатель	ОШ	95% ДИ	p
НВЛ 2 $\geq 11,2\%$	37,00	3,28-416,92	0,0001
Инфекционные осложнения (сепсис, рецидив ИЭ)	44,00	4,82-401,55	0,0001
Мужской пол	0,42	0,07-2,71	0,35
Возраст > 60 лет	1,42	0,23-8,75	0,71
ССЗ в анамнезе	1,54	0,26-9,26	0,64

Эмболические события	0,64	0,07-6,05	0,69
<i>Staphylococcus spp.</i>	0,42	0,07-2,53	0,33
<i>S. aureus</i>	0,24	0,03-2,20	0,18
ИЭ, неустановленной этиологии	0,95	0,10-9,27	0,97
Левосторонняя локализация ИЭ	2,93	0,32-27,23	0,32
Вегетации ≥ 13 мм	0,12	0,01-1,09	0,09

При многофакторном регрессионном анализе включались переменные, для которых получена значимость межгрупповых различий при однофакторном анализе – НВЛ $2 \geq 11,2\%$ и развитие инфекционных осложнений (сепсис, рецидив ИЭ) в раннем послеоперационном периоде. При этом показано (Таблица 47), что уровень НВЛ $2 \geq 11,2\%$ сохранял прогностическую роль в отношении госпитальной летальности у оперированных пациентов с ИЭ (ОШ 23,86, 95% ДИ от 1,65 до 344,84, $p=0,02$).

Таблица 47 – Шансы развития госпитальной летальности при ИЭ по данным многофакторного анализа

Показатель	ОШ	95% ДИ	p
НВЛ $2 \geq 11,2\%$	23,86	1,65-344,84	0,02
Инфекционные осложнения (сепсис, рецидив ИЭ)	15,81	0,92-272,97	0,06

Связь уровня НВЛ с развитием отдельных исходов при ИЭ

За период наблюдения (180 дней) летальный исход наступил у 9 (17,3%) пациентов (6 в госпитальном периоде и 3 после выписки), из них НВЛ изучено у 8 (88,9%) человек. Ранний рецидив ИЭ наступил у 3 (5,8%) пациентов, во всех случаях у лиц с внутривенным употреблением психоактивных препаратов. В зависимости от найденного отрезного значения НВЛ $\geq 11,2\%$ медиана выживаемости за период наблюдения составила 94,5 (95% ДИ от 14,74 до 162,32) дней против 180,0 (95% ДИ от 164,76 до 183,40) дней при НВЛ $< 11,2\%$, $p < 0,05$.

Отмечено влияние уровня НВЛ $\geq 11,2\%$ на наступление комбинированной конечной точки (общая летальность и/или рецидив ИЭ в течение 6 месяцев после операции) (ОР 8,06, 95% ДИ от 2,29 до 28,41, $p < 0,001$) и на общий летальный исход от всех причин в течение 6 месяцев после операции (ОР 7,58, 95% ДИ от 1,85 до 31,06, $p < 0,005$). Кривые выживаемости в течение 6 месяцев после операции в зависимости от уровня НВЛ в динамике представлены на Рисунке 14, при этом расхождение кривых Каплана-Мейера отмечалось уже в раннем послеоперационном периоде (до 20 дней после операции) и далее оставалось относительно стабильным.

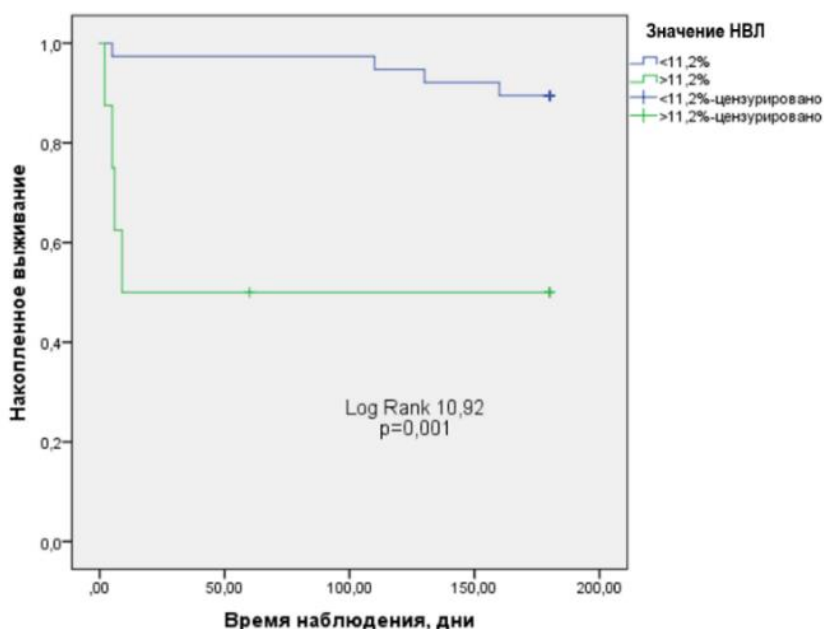


Рисунок 14 – Кривые выживаемости Каплана-Мейера у оперированных пациентов с ИЭ в течение 6 месяцев после операции в зависимости от уровня НВЛ (точка 2)

Прогностическая роль уровня НВЛ в отношении эмболических событий

Ожидалось, что уровень НВЛ также будет предиктором развития эмболических событий, однако в нашей когорте пациентов данной закономерности не было обнаружено, что, вероятно, связано с отсутствием эмболических осложнений во время госпитализации в кардиохирургическом стационаре. Значение НВЛ также не было предиктором уже свершившихся эмболических осложнений до

поступления в кардиохирургический стационар. Уровень НВЛ у пациентов с эмболическими событиями и без них значимо не различались (Таблица 48).

По данным однофакторного анализа, предикторами эмболических осложнений служили правосторонний ИЭ, внутривенная наркомания, активный леченный ИЭ, гепатит С, увеличение вегетаций (Таблица 49).

Таблица 48 – Уровень НВЛ в зависимости от наличия эмболических событий у оперированных пациентов с ИЭ по сравнению с оперированными пациентами с пороками сердца без ИЭ и сепсисом

Показатель	ИЭ с эмболическими событиями	ИЭ без эмболических событий	Оперированные с пороками без ИЭ	Сепсис
НВЛ точка 1, Ме [IQR]	4,8 [1,3-6,2]	4,2 [2,4-8,5]	3,4 [1,7-6,9]	4,4 [1,4-7,0]
НВЛ точка 2, Ме [IQR]	2,6 [1,8-5,3]	4,9 [2,6-9,1]	2,9 [1,1-4,3]	4,8 [1,8-8,9]

Таблица 49 – Независимые предикторы развития эмболических осложнений у оперированных пациентов с ИЭ при помощи однофакторного анализа (n=46)

Показатель	ОШ	95% ДИ	р
НВЛ (точка 1)			
Квартиль 1 ($\leq 2,1\%$)	0,64	0,12-3,55	0,61
Квартиль 2 (2,2-4,2%)	0,64	0,12-3,55	0,61
Квартиль 3 (4,3-6,1%)	1,22	0,27-5,51	0,79
Квартиль 4 ($\geq 6,2\%$)	0,82	0,18-3,69	0,79
НВЛ (точка 2)			
Квартиль 1 ($\leq 2,3\%$)	1,43	0,34-5,97	0,62
Квартиль 2 (2,4-4,2%)	1,81	0,37-8,90	0,46
Квартиль 3 (4,3-6,1%)	1,08	0,24-4,99	0,92
Квартиль 4 ($\geq 6,2\%$)	0,25	0,03-2,22	0,19
Правосторонний ИЭ	34,09	3,99-291,16	0,0001
Внутривенная наркомания	10,46	2,50-43,81	0,001
Активный леченный ИЭ	9,43	2,21-40,24	0,002
Гепатит С	7,50	2,00-28,05	0,002
Увеличение вегетаций	3,89	1,18-12,84	0,02

*Прогностическая роль уровня НВЛ в отношении осложненного течения ИЭ
(внутрисердечные, инфекционные осложнения, сепсис)*

Уровень НВЛ при поступлении у оперированных пациентов с ИЭ и внутрисердечными осложнениями (абсцесс клапана, фистула/перфорация клапана, отрыв хорд, увеличение регургитации/вегетаций, дисфункция протеза) был значимо выше, чем у пациентов без этих осложнений (Таблица 50).

Таблица 50 – Уровень НВЛ в зависимости от наличия внутрисердечных осложнений у оперированных пациентов с ИЭ по сравнению с оперированными пациентами с пороками сердца без ИЭ и сепсисом

Показатель	ИЭ с внутрисердечными событиями	ИЭ без внутрисердечных событий	Оперированные с пороками без ИЭ	Сепсис
НВЛ 1, Me [IQR]	4,8 [0,4-28,5]*	1,3 [0,3-6,2]*	3,4 [1,7-6,9]	4,4 [1,4-7,0]
НВЛ 2, Me [IQR]	4,3 [2,1-6,0]	4,0 [2,6-6,8]	2,9 [1,1-4,3]	4,8 [1,8-8,9]

Примечание – * $p < 0,05$ – значимость различий между группами.

По данным однофакторного анализа показаны низкие шансы внутрисердечных осложнений при низком уровне НВЛ при поступлении (Таблица 51).

Таблица 51 – Влияние значений НВЛ в отношении наличия внутрисердечных осложнений при ИЭ по данным однофакторного анализа (n=46)

Показатель	ОШ	95% ДИ	p
НВЛ 1			
Квартиль 1 ($\leq 2,1\%$)	0,16	0,30-0,90	0,03
Квартиль 2 (2,2-4,2%)	2,07	0,22-19,35	0,52
Квартиль 3 (4,3-6,1%)	0,33	0,04-3,07	0,31
Квартиль 4 ($\geq 6,2\%$)	3,00	0,33-27,60	0,31
НВЛ 2			
Квартиль 1 ($\leq 2,3\%$)	3,00	0,33-27,60	0,31
Квартиль 2 (2,4-4,2%)	0,24	0,04-1,37	0,09
Квартиль 3 (4,3-6,1%)	2,36	0,25-21,90	0,44
Квартиль 4 ($\geq 6,2\%$)	0,75	0,12-4,54	0,75

Также отмечался более высокий уровень НВЛ в динамике при наличии инфекционных осложнений в раннем послеоперационном периоде (сепсис n=4, рецидив ИЭ n=1) по сравнению с пациентами с ИЭ без данных осложнений (Таблица 52).

Таблица 52 – Уровень НВЛ в зависимости от наличия инфекционных осложнений у оперированных пациентов с ИЭ по сравнению с оперированными пациентами с пороками сердца без ИЭ и сепсисом

Показатель	ИЭ с инфекционными событиями	ИЭ без инфекционных событий	Оперированные с пороками без ИЭ	Сепсис
НВЛ 1, Me [IQR]	4,9 [1,6-13,7]	4,2 [2,3-6,2]	3,4 [1,7-6,9]	4,4 [1,4-7,0]
НВЛ 2, Me [IQR]	15,4 [5,2-24,6]*	3,9 [0,6-26,6]*	2,9 [1,1-4,3]	4,8 [1,8-8,9]

Примечание – *p < 0,05 – значимость различий между группами.

При однофакторном анализе также отмечено, что уровень НВЛ не имел прогностической значимости в отношении инфекционных осложнений (Таблица 53).

Таблица 53 – Влияние значений НВЛ в отношении развития инфекционных осложнений (сепсис/рецидив ИЭ) в раннем послеоперационном периоде у пациентов с ИЭ при помощи однофакторного анализа (n=46)

Показатель	ОШ	95% ДИ	p
НВЛ 1			
Квартиль 1 ($\leq 2,1\%$)	2,37	0,34-16,45	0,37
Квартиль 2 (2,2-4,2%)	-	-	-
Квартиль 3 (4,3-6,1%)	0,62	0,09-4,20	0,62
Квартиль 4 ($\geq 6,2\%$)	1,61	0,24-10,90	0,62
НВЛ 2			
Квартиль 1 ($\leq 2,3\%$)	-	-	-
Квартиль 2 (2,4-4,2%)	1,03	0,10-10,53	0,98
Квартиль 3 (4,3-6,1%)	0,68	0,07-6,78	0,74
Квартиль 4 ($\geq 6,2\%$)	6,19	0,89-43,44	0,15

У четырех пациентов течение ИЭ осложнилось развитием сепсиса, что сопровождалось нарастанием уровня НВЛ в динамике с достоверным отличием от оперированных пациентов без ИЭ (Таблица 54).

Таблица 54 – Уровень НВЛ в зависимости от развития сепсиса у оперированных пациентов с ИЭ по сравнению с оперированными пациентами с пороками сердца без ИЭ и сепсисом

Показатель	ИЭ с сепсисом	ИЭ без сепсиса	Оперированные пациенты с пороками без ИЭ	Сепсис
НВЛ 1, Me [IQR]	7,1 [2,6-15,9]	4,2 [1,9-6,2]	3,4 [1,7-6,9]	4,4 [1,4-7,0]
НВЛ 2, Me [IQR]	15,4 [5,2-24,6]*	2,9 [0,8-22,3]*	2,9 [1,1-4,3]*	4,8 [1,8-8,9]

Примечание – * $p < 0,05$ – значимость различий между группами.

При однофакторном анализе отмечен более высокий риск данного осложнения у пациентов со значениями показателя в верхних квартилях при исследовании НВЛ в динамике (для квартиля 4 ОШ 12,75 95% ДИ от 1,17 до 139,24, $p=0,01$) (Таблица 55).

Таблица 55 – Влияние значений НВЛ в отношении развития сепсиса у оперированных пациентов с ИЭ при помощи однофакторного анализа (n=46)

Показатель	ОШ	95% ДИ	p
НВЛ 1			
Квартиль 1 ($\leq 2,1\%$)	1,07	0,10-11,43	0,96
Квартиль 2 (2,2-4,2%)	-	-	-
Квартиль 3 (4,3-6,1%)	0,40	0,05-3,17	0,37
Квартиль 4 ($\geq 6,2\%$)	2,50	0,32-19,84	0,37
НВЛ 2			
Квартиль 1 ($\leq 2,3\%$)	-	-	-
Квартиль 2 (2,4-4,2%)	-	-	-
Квартиль 3 (4,3-6,1%)	0,94	0,09-10,00	0,96
Квартиль 4 ($\geq 6,2\%$)	12,75	1,17-139,24	0,01

При соотношении оптимального уровня чувствительности и специфичности с помощью ROC-анализа вычислено пороговое значение НВЛ в динамике для прогнозирования развития сепсиса у оперированных пациентов с ИЭ, составившее 11,2% и обладавшее чувствительностью 75% и специфичностью 88%, ППЗ 60%, ОПЗ 100%, площадь под кривой (AUC) составила 0,884, $p=0,01$ (Рисунок 15). Найденное отрезное значение предсказывало развитие сепсиса у оперированных пациентов с ИЭ с высокой точностью (ОШ 95% ДИ 22 от 1,9 до 256,8, $p=0,01$).

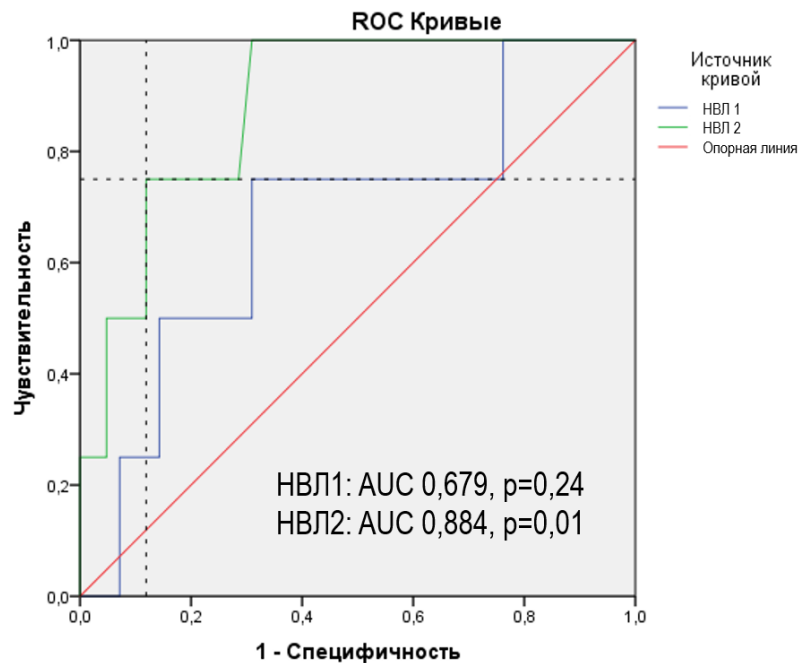


Рисунок 15 – Анализ ROC-кривой: связь значения НВЛ при поступлении и в динамике и развитием сепсиса у оперированных пациентов с ИЭ

Таким образом, уровень НВЛ коррелировал с воспалительными маркерами в крови (RDW, лейкоцитов и нейтрофилов), а при значении НВЛ $\geq 11,2\%$ с высокой точностью предсказывал наступление летального исхода в стационаре у оперированных пациентов с ИЭ. Кроме того, значения НВЛ были значимо выше у пациентов с внутрисердечными и инфекционными осложнениями, однако прогностическое значение не показано в отношении эмболических событий при высоком уровне НВЛ, что, возможно, связано с длительными временными промежутками между взятием крови на исследование и эмболическими событиями, малой частотой этих событий и недостаточной выборкой.

3.6.4 Анализ уровня нейтрофильных внеклеточных ловушек у пациентов с сепсисом

Изучен уровень нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) у 53 пациентов с сепсисом при постановке диагноза сепсис (НВЛ 1) и в динамике через 7 дней (НВЛ 2). Медиана НВЛ 1 и НВЛ 2 была сопоставимой (Ме [IQR] 4,4 [1,4-7,0] против 4,8 [1,8-8,9], $p=0,52$).

Оценена корреляция уровня НВЛ с лабораторными маркерами воспаления у пациентов с сепсисом, при этом значимых корреляционных связей не получено (Таблица 56).

Таблица 56 – Корреляция между уровнем НВЛ и лабораторными показателями в крови у пациентов с сепсисом ($n=53$)

Показатель		RDW	Лей	Ней	Тр	Прокальцитонин	СРБ
НВЛ 1	ρ Спирмена	0,06	-0,23	-0,23	0,03	-0,09	-0,19
	p	0,68	0,09	0,09	0,85	0,66	0,19
НВЛ 2	ρ Спирмена	0,07	-0,29	-0,24	0,15	-0,33	-0,42
	p	0,62	0,12	0,09	0,27	0,11	0,08

Сокращения: RDW – ширина распределения эритроцитов по объему, Лей – лейкоциты, Ней – нейтрофилы, Тр – тромбоциты, СРБ – С-реактивный белок.

Уровень НВЛ не различался в зависимости от госпитальной летальности у пациентов с сепсисом [у умерших 6,1 (1,5-8,8), у выживших 4,7 (1,3-9,7), $p=0,41$]. Также по данным ROC-анализа у пациентов с сепсисом показатели НВЛ при поступлении и в динамике не показали прогностическую значимость в отношении госпитальной летальности (Рисунок 16).

Однако при анализе уровня НВЛ в зависимости от развития септического шока (СШ) получены значимые различия с более высоким уровнем НВЛ у пациентов с данным осложнением по сравнению с группой сепсиса без развития СШ [6,2 (1,2-9,4), против 4,3 (1,1-7,8), $p=0,02$]. При оптимальном уровне чувствительности и специфичности по данным ROC-анализа вычислено отрезное

значение уровня НВЛ в качестве предиктора развития СШ, которое составило $\geq 5,9\%$ (Рисунок 17). При этом значение НВЛ бралось близкое к развитию СШ. Чувствительность найденного отрезного значения НВЛ $\geq 5,9\%$ в отношении развития СШ составила 62%, специфичность – 69%, ОПЦ – 69,2%, ППЦ – 50,0%, AUC 0,699, $p=0,02$.

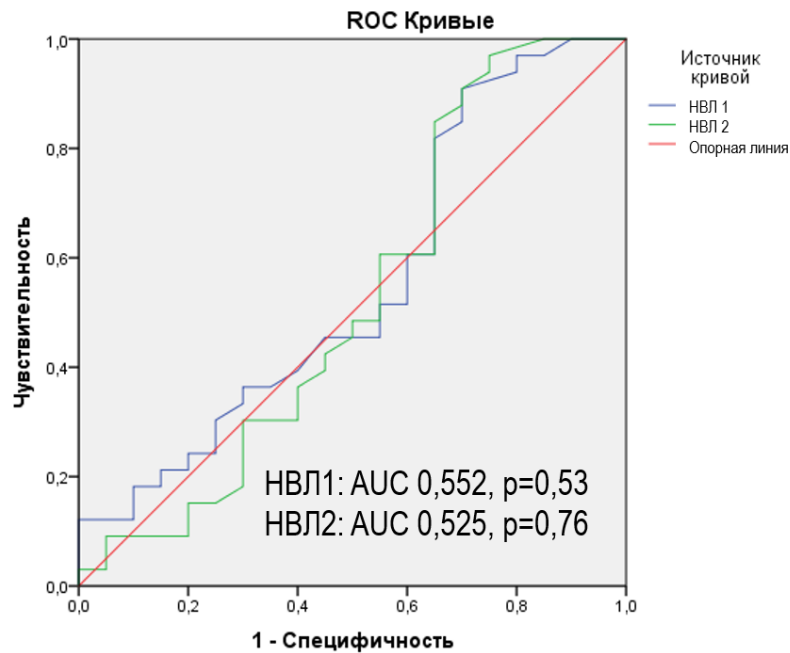


Рисунок 16 – Анализ ROC-кривой: связь значения НВЛ при поступлении и в динамике и госпитальной летальности у пациентов с сепсисом

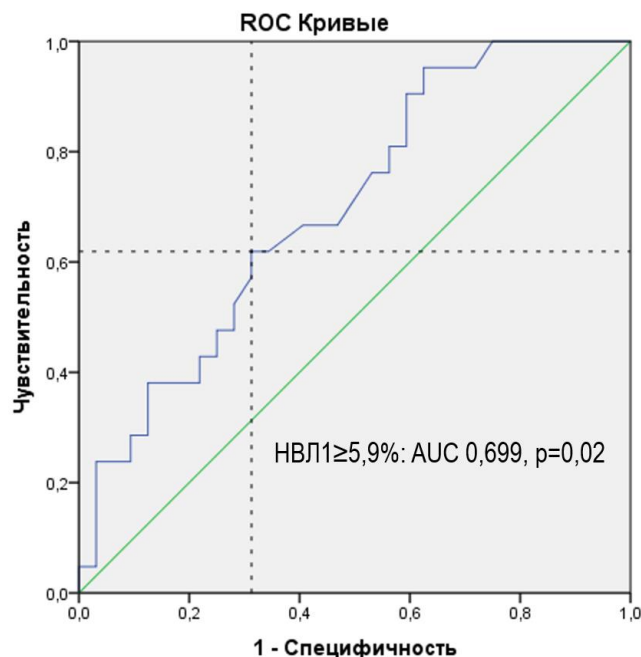


Рисунок 17 – ROC-кривая: уровень НВЛ в отношении в развития септического шока у пациентов с сепсисом

Кроме того, шансы развития СШ при НВЛ $\geq 5,9\%$ были выше, чем у пациентов с сепсисом и меньшими значениями НВЛ (ОШ 3,58, 95% ДИ от 1,13 до 11,35, $p < 0,05$).

Таким образом, в группе сепсиса показатели НВЛ не показали прогностической значимости в отношении госпитальной летальности, однако было вычислено пороговое значение НВЛ, составившее $\geq 5,9\%$, для прогнозирования развития септического шока.

4 Обсуждение полученных результатов

В представленной работе проведена интегральная оценка этиологических методов диагностики у оперированных пациентов с ИЭ (МБИ и ПЦР-исследования в венозной крови и тканях клапана), изучена их чувствительность и специфичность. Исследована роль НВЛ у оперированных пациентов с ИЭ, определены уровни НВЛ при поступлении и в динамике, проведено сравнение с уровнями НВЛ оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ и группой пациентов с сепсисом. Найдено отрезное значение НВЛ, ассоциированное с плохим прогнозом и летальностью у оперированных пациентов с ИЭ, а также отрезное значение, связанное с развитием септического шока у пациентов с сепсисом.

Эффективность хирургического лечения ИЭ зависит от качественной этиологической диагностики, адекватности назначения АБТ и своевременности определения показаний для операции. Популяция оперированных пациентов с ИЭ представляет интерес в связи с возможностью выделения возбудителя непосредственно из тканей клапана, где его концентрация является максимальной. Однако опубликованные ранее данные свидетельствуют о неприемлемо низкой чувствительности и специфичности традиционно применяемого в диагностике ИЭ МБИ тканей клапана, с положительными результатами исследования всего у 6-26% пациентов ИЭ [97, 122, 124], схожие результаты получены в нашем исследовании (19,2%). В связи с чем, ключевым вопросом представляется проблема культуронегативного ИЭ, а также, влияние предшествующей дооперационной АБТ и определение значения дискордантных результатов.

Трудностями в диагностике ИЭ являются часто стертая клиническая картина с полиморфизмом симптомов, недостаточная информативность эхокардиографии и низкая частота положительных результатов МБИ крови, что нередко приводит к несвоевременному определению показаний для хирургического лечения и позднему поступлению пациентов в кардиохирургический стационар [11]. Увеличение сроков постановки диагноза ИЭ препятствует своевременному началу АБТ и обуславливает безуспешность консервативной терапии. В ранее

проведенном исследовании диагноз ИЭ был установлен в течение первого месяца с начала симптомов всего лишь у 32% пациентов, через 6 месяцев – у 64%, через 12 месяцев – у 94% [11]. Из тех, у кого имелись показания к хирургическому лечению, оно проведено в течение 1 месяца после установки диагноза ИЭ только у 40% пациентов, остальным продолжена неэффективная консервативная терапия [11]. В нашем исследовании также отмечались длительные сроки диагностики у пациентов с ИЭ как от первых симптомов до диагноза (Me [IQR]) 41 [25-64] дней, так и до операции 62 [39-87] дней.

В нашей когорте пациентов с ИЭ также, как по данным литературы [3, 37, 72, 73], преобладал мужской пол (80,8%). По нашим данным отмечался более молодой возраст (Me [IQR] 55,5 [44,0-70,0]) по сравнению с общей когортой пациентов с ИЭ, но сопоставимые показатели с исследованиями, включающими только оперированных пациентов [42, 73, 75, 92], что, вероятно, связано с отбором стабильных пациентов для кардиохирургического лечения и высокой частотой пациентов с анамнезом употребления психоактивных препаратов. ИЭ, ассоциированный с внутривенным употреблением психоактивных препаратов, встречался у 34,6%, что согласуется с общими тенденциями в отношении роста заболеваемости ИЭ, ассоциированного с наркоманией [77, 147, 151, 173].

По данным EURO-ENDO у большинства пациентов отмечался ИЭ нативного клапана левосторонней локализации, тогда как ИЭ у наркоманов составлял 6,9%. В нашем исследовании также отмечена большая частота поражения нативного клапана (94,2%), левосторонней локализации (65,4%) [73]. Похожий профиль больных был в исследовании Kim и соавт. (2017) [92], Halavaara и соавт. (2019) [75], Armstrong и соавт. (2021) [37].

Хирургическое лечение является единственным радикальным методом лечения ИЭ. В нашем исследовании показаниями для хирургического лечения в большинстве случаев были гемодинамические причины, похожие данные продемонстрированы в других исследованиях [4, 11, 73], где прогрессирующая СН была показанием для операции более чем у половины пациентов, кроме того, в большинстве случаев отмечалось наличие более 2 показаний. Наличие

комбинированных показаний для хирургического лечения ИЭ значительно усугубляет течение заболевания, увеличивает сложность выполнения операции, способствует более тяжелому течению послеоперационного периода и связано с неблагоприятным исходом [4].

Госпитальная летальность в общей группе ИЭ составляет 17,1-23,9% [73, 126, 134], тогда как у оперированных пациентов с ИЭ показатели госпитальной летальности ниже и составляют 16,1-19,3% [134], в нашем исследовании – 11,5%. Шестимесячная летальность оперированных пациентов с ИЭ по данным Park и соавт. (2016) составляет 19,2-22,6%, что сопоставимо с нашими данными (17,3%) [134].

Качественная этиологическая диагностика имеет ключевое значение для пациентов с ИЭ, требующих хирургического вмешательства, в особенности учитывая длительную предшествующую АБТ, приводящую к высокой частоте ИЭ с отрицательными результатами МБИ. Отрицательный результат МБИ венозной крови наблюдается у 12,0-58,2% пациентов с диагнозом ИЭ [36, 37, 73, 92, 117, 144]. В нашем исследовании отрицательные результаты МБИ венозной крови до поступления в кардиохирургический стационар составляли 50%, в кардиохирургическом стационаре – 82,7%, что было приближено к результатам El-Kholу и соавт., 2015 г. (69,7%) [59] и Toran и соавт. (2015) (71,2%) [165].

Для преодоления низкой частоты положительных результатов при МБИ крови и ткани клапана необходимо внедрение новых методов, не зависящих от стадии культивирования, однако это сопряжено с возникновением новой диагностической проблемы – обнаружением дискордантных результатов разных методов этиологической диагностики. По данным Munoz и соавт. (2008) число дискордантных результатов МБИ и ПЦР-исследования тканей сердечного клапана у оперированных пациентов по поводу ИЭ достигало 36% [124], в нашем исследовании несовпадение возбудителей, выявленных разными методами, отмечалось в 13,5% случаев. Благодаря методу ПЦР доказаны ложноположительные результаты МБИ крови и клапана в 11,5%, представленные комменсалами кожных покровов (*CoNS*). Munoz и соавт. (2008) показали, что МБИ

тканей клапанов показало ложноположительный результат у оперированных пациентов без признаков ИЭ в 28% случаев [124]. По нашим данным ложноположительные результаты МБИ ткани клапана в группе оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ отмечались у 8,0% пациентов, что вероятнее всего связано с лучшим качеством проведения МБИ, хотя в целом следует отметить низкую специфичность данного метода.

Низкая чувствительность традиционных МБИ чаще всего связана с длительной предшествующей АБТ (по нашим данным медиана дооперационной АБТ составила 27,5 [17,3-38,8] дней). Выполнено ограниченное количество исследований, изучающих влияние АБТ на чувствительность этиологических методов диагностики у оперированных пациентов с ИЭ, преимущественно представленными данными в отношении МБИ. Moreillon и соавт. (2004) отметили, что АБТ ≥ 2 недель ассоциирована с отрицательным результатом МБИ венозной крови [121], что согласуется с полученными нами данными – при АБТ 15-28 дней МБИ венозной крови было положительным лишь у 1/3 обследованных, а при АБТ ≥ 29 дней, результаты тестирований оказались отрицательными у всех пациентов.

Kim и соавт. (2017) отметили связь частоты положительных результатов МБИ крови со сроками проведения исследования: так в ранние сроки диагностики ИЭ, чувствительность метода составила 62,0%, а при отсроченном тестировании в кардиохирургическом стационаре – 41,8% [92]. Аналогичные данные получены Casalta и соавт. (2009), показавшими снижение чувствительности МБИ крови в 2 раза на фоне АБТ [48]. Нами также было отмечено снижение чувствительности МБИ крови более чем в 2 раза при выполнении исследования до и при поступлении в кардиохирургический стационар [44,2% против 17,3%, $p < 0,05$, соответственно].

За последние 20 лет опубликован ряд работ, демонстрирующих низкую чувствительность МБИ ткани клапана на фоне длительной АБТ [37, 75, 92, 95, 114, 171]. Upton A. и соавт. (2005) показали, что МБИ ткани клапана было положительным при АБТ ≥ 14 дней только у 1/131 обследованного с ИЭ [167], что было подтверждено данными Vollmer и соавт. (2010) [172]. Похожие результаты по снижению чувствительности МБИ ткани клапана при АБТ ≥ 7 дней

продемонстрировали в 2009 г. Mekontso Dessap A. и соавт. с 76% до 22% ($p < 0,001$) [114] и в 2020 г. Gisler и соавт. с 52% до 13% ($p < 0,001$) [69]. Мы также отметили снижение чувствительности МБИ тканей клапанов на фоне АБТ: до 29 дней АБТ этиологический агент был выявлен лишь у 1/5 обследованных, а при АБТ ≥ 29 возбудитель не был идентифицирован ни у одного пациента. Кроме того, хотелось бы отметить в целом низкую чувствительность МБИ тканей резецированных клапанов – по данным литературы 18-41% [37, 75, 124, 137], по нашим данным – 19,2%.

Внедрение в алгоритм этиологической диагностики ИЭ новых более чувствительных методов, способно существенно снизить процент культуронегативного ИЭ. Молекулярно-биологические методы, в частности ПЦР, позиционируются как методы, не зависящие от стадии культивирования и демонстрирующие большую чувствительность, даже при длительной АБТ по сравнению с традиционными культуральными исследованиями [37, 63, 75, 137, 171]. В целом, не зависимо от АБТ чувствительность ПЦР-исследования варьирует от 40% до 100% [3, 9, 41, 59, 75, 100, 117, 143], что было сопоставимо с результатами нашего исследования: для ПЦР-исследования венозной крови – 36,5%, тканей резецированных клапанов – 73,1%. Относительно низкая чувствительность ПЦР-исследования венозной крови в нашем исследовании, вероятно, связана с выполнением его на поздних сроках (при поступлении в кардиохирургический стационар).

Korber и соавт. (2017) отметили, что на фоне АБТ возбудитель достоверно чаще выявлялся методом ПЦР в венозной крови (64,6%), чем при МБИ крови [94]. Zeaiter и соавт. (2003) показали, что предшествующая АБТ не влияла на чувствительность ПЦР-исследования крови [178]. В нашем исследовании также показана большая чувствительность ПЦР-исследования венозной крови, по сравнению с МБИ крови/ткани резецированного клапана как при АБТ ≤ 28 дней [41,4% против 31,1% и 34,5%, $p > 0,05$, соответственно], так и при АБТ ≥ 29 дней [30,4% против 0% и 0%, $p < 0,01$, соответственно]. Длительность предшествующей

АБТ также не влияла на чувствительность ПЦР-исследования венозной крови [Me [IQR] 24 [16,0-35,3] и 30 [17,3-39,5], $p > 0,05$, соответственно] [178].

В серии зарубежных публикаций показана превосходящая чувствительность ПЦР-исследования тканей резецированных клапанов по сравнению с МБИ при длительной предшествующей АБТ ИЭ, показавших отсутствие или минимальное влияние АБТ на частоту выявления возбудителя методом ПЦР [37, 75, 92, 95, 171, 172]. Kotilainen и соавт. (2006) продемонстрировали, что ПЦР-исследование ткани клапана достоверно дольше выявляло возбудитель при длительной АБТ по сравнению с МБИ [M (min-max): 23,5 (1-58) против 4 (2-8) дней АБТ, $p < 0,001$], при этом чувствительность ПЦР-исследования ткани клапана не зависела от длительности АБТ [95]. Аналогичные данные получены Voldstedlund и соавт. (2008), показавшими, что при АБТ < 5 дней чувствительность МБИ и ПЦР тканей клапана были сопоставимы (62% против 77%, $p > 0,05$, соответственно), а при АБТ ≥ 11 дней чувствительность МБИ значительно снижалась при сохраняющихся показателях ПЦР-исследования ткани клапана (10% и 76%, $p < 0,05$, соответственно) [171]. Сопоставимые результаты на оперированных пациентах с ИЭ продемонстрировали Halavaara M. и соавт. (2019) по снижению чувствительности МБИ после АБТ ≥ 2 недель с 41% до 0% при высоких показателях ПЦР-исследования тканей резецированных клапанов 91%-53% [75]. Отдельно отметим результаты Vollmer и соавт. (2010), продемонстрировавшие возможность определения ДНК в тканях клапанов методом ПЦР даже при АБТ более 40 дней [172]. Нами было показано, что ПЦР-исследование тканей резецированных клапанов обладало наивысшей чувствительностью среди анализируемых методов этиологической диагностики, сохраняя чувствительность даже при АБТ ≥ 29 дней, и позволило выявить возбудителя у 3/4 обследованных, не снижаясь в зависимости от длительности АБТ.

Также следует отметить исследование Rovey и соавт. (2005) которое продемонстрировало, что бактериальная ДНК может сохраняться в клапанах сердца в течение длительного времени после успешного лечения и не обязательно свидетельствует о персистенции жизнеспособных микроорганизмов, в связи с чем

данные этиологических методов необходимо оценивать совместно с клинико-лабораторными показателями и патогистологическим исследованием иссеченной ткани клапана и вегетаций [148]. Выявление скоплений микроорганизмов при патогистологическом исследовании является патологическим критерием Дюка [3, 72]. Кроме того, характерными изменениями иссеченного клапана и вегетаций при ИЭ является наличие воспалительной инфильтрации, мукоидной дегенерации и отложений фибрина с различной степенью выраженности воспаления в зависимости от возбудителя ИЭ [101, 104]. В нашем исследовании гистологическое исследование было проведено всем оперированным пациентам с ИЭ и с пороками сердца без ИЭ, активный воспалительный процесс подтвержден во всех случаях ИЭ.

Таким образом, чувствительность традиционно применяемых МБИ крови и тканей резецированных клапанов при ИЭ напрямую зависела от длительности дооперационной АБТ. Порогом для выявления возбудителя при МБИ крови и ткани резецированного клапана стала АБТ в течение 28 дней, тогда как ПЦР-исследования крови и ткани резецированного клапана сохраняли свою чувствительность и способствовали выявлению возбудителей ИЭ в большинстве случаев даже при АБТ ≥ 29 дней. ПЦР-исследование ткани резецированного клапана показало наибольшую чувствительность в выявлении возбудителя ИЭ, позволив определить этиологию в 73,1% случаев, что особенно ценно для оперированных пациентов с длительной предшествующей АБТ.

Наиболее преобладающим возбудителем ИЭ являлся *Staphylococcus spp.* (44,3%), в особенности *S. aureus* (38,5%), далее по частоте встречаемости *Enterococcus spp.* в 9,6% и *Streptococcus spp.* в 9,6%. Редкий возбудитель ИЭ, такой как *Bartonella spp.*, встречался в 5,8%. Данные тренды в этиологической структуре возбудителей также отмечались в предыдущих исследованиях [9, 22, 35, 60, 73, 175].

Стафилококковый ИЭ характеризуется деструктивным поражением клапанного аппарата и развитием внутрисердечных осложнений и паравальвулярных абсцессов [4]. В нашей когорте пациентов преимущественно

встречался ИЭ стафилококковой этиологии, что обосновывает высокую частоту встречаемости внутрисердечных осложнений (80,8%).

По данным Шевченко и соавт. (2020) в последние годы отмечался рост частоты развития абсцедирующей формы внутрисердечной инфекции (с 14% до 24,6% при поражении АК и с 9% до 23,8% при поражении МК) [24]. Абсцессы корня аорты выявлялись в 17,4%, фиброзного кольца МК – у 12,9% и у 5,2% пациентов с поражением ТК. Наиболее часто при внутрисердечных абсцессах приходилось прибегать к реконструкции фиброзного кольца или применять нестандартные хирургические приемы. В нашем исследовании абсцессы клапанов были одним из наиболее распространенных проявлений в структуре внутрисердечных осложнений и отмечались у 21,2% оперированных пациентов с ИЭ.

По данным предыдущих исследований осложненное течение послеоперационного периода отмечается у 41,9-71,4% пациентов с ИЭ, среди них наиболее часто отмечались аритмии, ОПП, гидроторакс и кровотечения; основной причиной смерти в послеоперационном периоде являлось развитие острой сердечно-сосудистой недостаточности [28]. В нашем исследовании получены схожие данные: распространенность послеоперационных осложнений составила 67,3%. Наиболее часто отмечались ОПП (80,0%) и постперикардотомный синдром (42,9%). Имеется отчетливая и достоверная зависимость послеоперационной летальности от продолжительности дооперационного лечения пациентов с ИЭ [24]. Ранее показано, что подавляющее большинство пациентов, имеющих летальный исход в ближайшие сроки после операции, дольше других лечились консервативно [24]. Осложнения или неблагоприятный исход в отдаленном послеоперационном периоде чаще всего связаны с нарастающей сердечной недостаточностью и рецидивами инфекции [18], аналогичные результаты получены в данном исследовании.

Таким образом, молекулярно-биологические методы (ПЦР-исследование и секвенирование по Сэнгеру) имеют несомненное преимущество в скорости получения результата, высокой диагностической эффективности с возможностью

идентификации трудно или некультивируемых микроорганизмов и доказательства ложноположительных результатов МБИ. Комплексная этиологическая диагностика ИЭ позволила повысить частоту выявления возбудителя с 53,8% (n=27/52) до 82,7% (n=43/52). Дополнительное применение ПЦР-исследования позволило подтвердить ложноположительные результаты МБИ крови и ткани клапана в 11,5%, впервые выявить возбудителя при отрицательном МБИ – в 21,2% случаев. В связи с полученными данными показано, что ПЦР-исследование крови и тканей клапанов можно использовать не только для увеличения частоты выявления возбудителя, но и для контроля за результатами традиционных МБИ.

Несмотря на успехи в диагностике и лечении ИЭ, это заболевание по-прежнему имеет неблагоприятный прогноз, в связи с чем, актуальным представляется поиск ранних предикторов осложненного течения заболевания. Ранее предпринимались попытки для выделения маркеров прогноза у пациентов с ИЭ, среди них тропонин, предшественник мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) и калькуляторы риска (французский и итальянский), однако идеального метода в настоящее время нет [3]. С учетом современной концепции иммунотромбоза, обсуждается роль НВЛ у пациентов с ИЭ как возможного раннего и патогенетически обоснованного маркера прогрессирования инфекции и, как следствие, эмболических событий и госпитальной летальности [15, 44]. Кроме того, иммунотромбоз считается физиологическим процессом, имеющим решающее значение для иммунитета, тогда как нарушение регуляции иммунотромбоза может быть одним из основных событий, которые запускают тромботические нарушения. Нейтрофилы являются ключевыми клетками в развитии иммунотромбоза посредством выброса НВЛ [15, 44].

В отечественной и зарубежной литературе представлено малое количество исследований по изучению роли НВЛ, которые имеют неоднозначные результаты. Также следует отметить, что стандартизированной методики исследования НВЛ в настоящее время не установлено, в зарубежных исследованиях преимущественно представлено изучение компонентов НВЛ (внеклеточная ДНК, нейтрофильная эластаза 2, миелопероксидаза и катепсин G, гистоны H1, H2A, H2B, H3 и H4 и

другие), а не их количественная оценка в мазках крови методом автоматической микроскопии по разработанной ранее методике [20], как это было выполнено в настоящем исследовании, что ограничивает прямое сравнение данных результатов.

Ранее была изучена связь формирования НВЛ в ответ на инфекцию, как реакции врожденного иммунного ответа. Впервые нетоз, как новый антимикробный механизм, отличный от фагоцитоза и дегрануляции, описал Brinkmann и соавт. в 2004 году [44]. Стимуляция нейтрофилов вызывает высвобождение хроматиновых волокон с антибактериальными белками, такими как эластаза, катепсин G и миелопероксидаза из нейтрофилов с формированием НВЛ. Роль НВЛ заключается в том, чтобы задерживать и уничтожать патогенные микроорганизмы [44]. Микроорганизмы запутываются в этих ловушках, а высвобождающиеся гистоны оказывают противомикробное действие, направленное на широкий спектр микроорганизмов, включая грамотрицательные и грамположительные бактерии, грибы, вирусы и простейшие [44].

Однако избыточная продукция НВЛ приводит к повреждению клеток, прогрессированию воспаления и тромбообразованию [102, 133]. В патогенезе ИЭ обсуждается неконтролируемый процесс нетоза, однако исследования роли НВЛ у пациентов с ИЭ отсутствуют. Исследования при ИЭ ограничены только экспериментальными данными на животных. В частности, Jung C. J. и соавт. (2015) описали роль НВЛ в увеличении размера вегетаций на крысиной модели ИЭ (n=9), вызванного *Streptococcus mutans*, и показали тесную связь НВЛ с активацией тромбоцитов [87]. Изучение НВЛ проводили методом конфокальной микроскопии с дополнительной оценкой гистонов методом вестерн-блота. Было показано, что вегетация имела слоистую структуру с большим количеством НВЛ, внутри которых находились микроорганизмы и тромбоциты с формированием агрегатов бактерий-тромбоцитов, приводящих к росту вегетации. Кроме того, интересным представляется предположение, высказанное авторами, что эффективность проводимой АБТ может быть снижена, в связи с тем, что микроорганизмы находятся глубоко в толще агрегатов бактерий-тромбоцитов внутри НВЛ [87]. Мы также предполагали связь НВЛ с эмболическими осложнениями, учитывая

обоснованность данного положения патогенезом иммуноотробо́за [87], однако в нашей когорте пациентов данной связи не обнаружено, что могло быть связано с ограничениями исследования, такими как недостаточная мощность исследования, малое число исследуемых событий.

Сепсис является заболеванием, наиболее близким по патогенезу к ИЭ. Однако роль НВЛ у пациентов с сепсисом также остается неопределенной [78, 72, 139, 151]. Hashiba M. и соавт. (2015) показали, что уровень внеклеточной ДНК и гистонов в плазме крови у пациентов с сепсисом *ex vivo* значимо выше, чем у пациентов без сепсиса, однако данная тенденция не была определена у пациентов с сепсисом *in vivo* [78]. По данным Li и соавт. (2018) показана связь высокого уровня НВЛ с плохим прогнозом и исходом у пациентов с сепсисом, в частности с развитием внутрисосудистого тромбоза, диссеминированного внутрисосудистого свертывания и полиорганной дисфункции, что увеличивает риск летального исхода [102]. В данном исследовании также показана связь высокого уровня НВЛ с плохим прогнозом (госпитальной летальностью и внутрисердечными и инфекционными осложнениями) у оперированных пациентов с ИЭ. Этот показатель был выше при стафилококковом ИЭ, что, по-видимому, связано с деструктивным поражением клапана, характерном для этого возбудителя [156]. Кроме того, в нашем исследовании показано, что повышение уровня НВЛ не было связано с хирургическим вмешательством (отсутствие повышения уровня НВЛ после операции на сердце у пациентов с ИЭ и из группы оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ), что свидетельствует о повышении этого показателя именно в связи с бактериальной инфекцией.

Нами была исследована группа контроля – пациенты с сепсисом, как наиболее схожая популяция с инфекцией кровотока.

Jiao Y. и соавт. (2020) показали более высокие уровни компонентов НВЛ (внеклеточной ДНК и миелопероксидазы) в плазме крови у пациентов с септическим шоком, чем у здоровых пациентов из контрольной группы, которые коррелировали с тяжестью заболевания и летальным исходом [85]. В нашем исследовании также отмечались более высокие значения НВЛ у пациентов с

септическим шоком и определено пороговое значение НВЛ, составившее $\geq 5,9\%$, для прогнозирования развития септического шока. Однако также следует отметить различие дизайна исследования и метода определения НВЛ, что ограничивает прямое сравнение данных результатов.

По данным Patel и соавт. (2018) летальность была связана с уменьшением нетоза у пациентов с сепсисом, что связано с относительной иммуносупрессией у этих пациентов [136]. В нашем исследовании также было отмечено отсутствие взаимосвязи повышенного уровня НВЛ с госпитальной летальностью, однако и низкий уровень НВЛ не определял летальный исход.

Наше исследование имело несколько ограничений. Во-первых, в большинстве случаев мы не имели возможности назначать терапию проспективно от момента постановки диагноза ИЭ до операции. Длительность АБТ в предыдущие госпитализации до поступления в кардиохирургический стационар мы оценивали ретроспективно по данным анамнеза и представленной медицинской документации, что создавало определенные трудности в подсчете истинной длительности АБТ, и, возможно, повлияло на конечный результат. Во-вторых, мы проводили ПЦР-исследование крови только на поздних сроках, в кардиохирургическом стационаре, что оказало влияние на чувствительность метода, однако, несмотря на это, преимущество над МБИ сохранилось. Также следует отметить различие дизайнов предыдущих исследований, что ограничивает прямое сравнение полученных нами результатов с данными других авторов, преимущественно направленных на сравнение чувствительности двух или трех представленных методов этиологической диагностики.

Ограничениями исследования роли НВЛ у оперированных пациентов с ИЭ и в группе сепсиса является в целом низкая частота развития анализируемых событий из первичной и вторичных конечных точек у оперированных пациентов с ИЭ и длительные временные промежутки, в частности для эмболических событий, между возникновением неблагоприятного события и взятием крови на анализ.

ВЫВОДЫ

1. Положительные результаты микробиологического исследования крови наблюдались в 2,5 реже при отсроченном его выполнении (от момента постановки диагноза до поступления кардиохирургической стационар). Микробиологическое исследование тканей клапана имело наиболее низкую чувствительность, с высокой частотой выявления коагулазонегативных стафилококков (11,5%). В этиологической структуре по данным микробиологического исследования преобладали стафилококки у 25,0%, реже встречались энтерококки у 13,5% и стрептококки у 7,7%.

2. Совместное применение ПЦР-исследования крови и тканей клапана у оперированных пациентов позволило обнаружить возбудителя ИЭ у 73,1%. В этиологической структуре по данным ПЦР-исследования преобладали стафилококки у 38,5%, реже встречались энтерококки у 7,7% и стрептококки у 5,8%, впервые выявлена *Bartonella spp.* у 5,8%.

3. Конкордантные результаты микробиологического исследования и ПЦР-исследования крови и тканей клапанов получены у 42,3% пациентов. Дополнительное применение ПЦР-исследования позволило впервые выявить возбудителя ИЭ у 21,2% и подтвердить ложноположительные результаты микробиологического исследования у 11,5% обследуемых с ИЭ, а также у 8,0% оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ, обусловленных контаминацией *CoNS* и условно патогенной флорой.

4. ПЦР-исследование обладало лучшими характеристиками, особенно при исследовании ткани клапана (чувствительность 73,1%, специфичность 100%, ОПЦ 79,4%, ППЦ 100%), вне зависимости от длительности дооперационной АБТ. Наихудшими характеристиками обладало микробиологическое исследование крови у длительно леченных антибактериальной терапией пациентов (чувствительность 17,3%, специфичность 100%, ОПЦ 53,8%, ППЦ 100%).

5. Уровень нейтрофильных внеклеточных ловушек $\geq 11,2\%$ у оперированных пациентов с ИЭ являлся предиктором госпитальной летальности (ОШ 23,86, 95% ДИ от 1,65 до 344,84, $p=0,02$), развития сепсиса (ОШ 22,0, 95% ДИ от 1,90 до 256,80,

$p=0,01$) и повышал риск возникновения комбинированных событий (общая летальность от всех причин и/или рецидив ИЭ в течение 6 месяцев после операции) в 8 раз ($p < 0,001$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У оперированных пациентов с ИЭ целесообразно применение ПЦР-исследования ткани клапана, как метода-выбора, обладающего наибольшей чувствительностью, даже при длительной дооперационной антибактериальной терапии.

2. У оперированных пациентов с ИЭ рекомендовано дополнительное параллельное проведение ПЦР-исследования крови/тканей клапанов не только для выявления возбудителя при ИЭ неуточненной этиологии, но и как метода-контроля за микробиологическими исследованиями.

3. Показано исследование уровня нейтрофильных внеклеточных ловушек в крови в динамике (при поступлении и на 7 сутки) у оперированных пациентов с ИЭ. При значении нейтрофильных внеклеточных ловушек $\geq 11,2\%$ необходима высокая настороженность лечащего врача на развитие неблагоприятных событий (смерть, сепсис) с привлечением «Команды эндокардита» к ведению пациента.

4. Пациентам с ИЭ рекомендовано выполнение микробиологического исследования крови на ранних сроках при постановке диагноза ИЭ в связи со снижением информативности метода в 2,5 раза при отсроченном проведении. Микробиологическое исследование тканей клапана необходимо оценивать с осторожностью в связи с высокой частотой отрицательных и неубедительных результатов, обусловленных выявлением кожных комменсалов.

Благодарности

Автор выражает огромную благодарность и искреннюю признательность сотрудникам ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (г. Москва) к.б.н., руководителю научной группы разработки новых методов диагностики оппортунистических и папилломавирусных инфекций отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии Домоной Э. А. и научному сотруднику научной группы разработки новых методов диагностики оппортунистических и папилломавирусных инфекций отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии Сильвейстровой О. Ю. за неоценимую помощь на всех этапах проведения исследования, помощь в подготовке публикаций и проведении молекулярно-биологических методов исследования.

Список сокращений

AUC (area under curve) – площадь под кривой,
CoNS – коагулазонегативный стафилококк,
COVID-19 – новая коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2,
DAMP – молекулярные паттерны, связанные с повреждением структур клетки,
Hb – гемоглобин,
HMGB1 – белок box 1 из группы белков с высокой подвижностью,
IQR (interquartile range) – интерквартильный интервал,
M – среднее значение,
MRSA – устойчивый к метициллину *S.aureus*,
MSSA – чувствительный к метициллину *S.aureus*,
Me – медиана,
RDW – ширина распределения эритроцитов по объему,
SD – стандартного отклонения,
TAVI – транскатетерная имплантация аортального клапана,
АБТ – антибактериальная терапия,
АГ – артериальная гипертония,
АК – аортальный клапан,
АЛТ – аланинаминотрансфераза,
АСТ – аспартатаминотрансфераза,
ВИЧ – вирус иммунодефицита человека,
ДИ – доверительный интервал,
ИБС – ишемическая болезнь сердца,
ИМТ – индекс массы тела,
ИЭ – инфекционный эндокардит,
Лей – лейкоциты,
Лимф – лимфоциты,
МБИ – микробиологическое исследование,
МК – митральный клапан,

НВЛ – нейтрофильные внеклеточные ловушки,
Ней – нейтрофилы,
ОПП – острое повреждение почек,
ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность,
ОР – отношение рисков,
ОШ – отношение шансов,
ПКТ – первичная конечная точка,
ППЦ – положительная прогностическая ценность,
ПЦР – полимеразная цепная реакция,
СД – сахарный диабет,
СДЛА – среднее давление легочной артерии,
СКФ – скорость клубочковой фильтрации,
СН – сердечная недостаточность,
СОЭ – скорость оседания эритроцитов,
СРБ – С-реактивный белок,
ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания,
СССУ – синдром слабости синусового узла,
СШ – септический шок,
ТИА – транзиторная ишемическая атака,
ТК – трикуспидальный клапан,
Тр – тромбоциты,
ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка,
ФЖ – фибрилляция желудочков,
ФП – фибрилляция предсердий,
ффВ – фактор фон Виллебранда,
ХБП – хроническая болезнь почек,
ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких,
ЭхоКГ – эхокардиография.

Список литературы

1. Амирагов, Р. И. Инфекционный эндокардит с обширным поражением трикуспидального клапана: новый подход к реконструкции с использованием ауто- и ксеноперикарда и неохорд. / Р. И. Амирагов, Р. М. Муратов, С. И. Бабенко // *Анналы хирургии.* – 2014. – № 6. – С. 23-30.
2. Данилов, А. И. Реальная практика терапии инфекционного эндокардита в РФ: промежуточные результаты исследования / А. И. Данилов, И. В. Алексеева, Т. В. Аснер, и др. // *МАЭСТРО. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* – 2013. – № 15 (2 S1). – С. 18-19.
3. Демин, А. А. Инфекционный эндокардит и инфекция внутрисердечных устройств. Клинические рекомендации 2021 / А. А. Демин, Ж. Д. Кобалава, И. И. Скопин и др. // *Российский кардиологический журнал.* – 2022. – № 27 (10). – С. 113-192.
4. Желтовский, Ю. В. Оптимизация хирургического лечения и профилактика рецидива у больных с инфекционным эндокардитом: автореферат дис. ... док. мед. наук: 14.00.44 / Желтовский Юрий Всеволодович. М., 2007. – 42 с.
5. Иванов, В. А. Результаты хирургического лечения инфекционного клапанного эндокардита. / В. А. Иванов, В. В. Домнин, И. В. Ярыгин // *Кардиология.* – 2015. – № 55 (4). С. 41-48.
6. Кассина, Д. В. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: значение для диагностики и прогноза COVID-19 / Д. В. Кассина, И. А. Василенко, А. С. Гурьев и др. // *Альманах клинической медицины.* – 2020. – № 48 (S1). – С. 43-50.
7. Кобалава, Ж. Д. Глобальные и национальные тренды эволюции инфекционного эндокардита / Ж. Д. Кобалава, Е. О. Котова // *Кардиология.* – 2023. – № 63 (1). – С. 3-11.
8. Котова, Е. О. Инфекционный эндокардит неустановленной этиологии: возможности преодоления и роль микробиологистики. / Е. О. Котова, Э. А. Домонова, Ж. Д. Кобалава, и др. // *Кардиология.* – 2021. – № 61 (1). – С. 87-97.
9. Котова, Е. О. Инфекционный эндокардит: значение молекулярно-биологических методов в этиологической диагностике / Е. О. Котова, Э. А.

Домонова, Ю. Л. Караулова, и др. // Терапевтический архив. – 2016. – № 88 (11). – С. 62-67.

10. Котова, Е. О. Современные тренды этиологической диагностики инфекционного эндокардита / Е. О. Котова, Э. А. Домонова, Ж. Д. Кобалава // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2021. – № 17(1). – С. 153-64.

11. Мильченко, М. В. Особенности инфекционного эндокардита у больных, направленных на хирургическое лечение: вопросы ранней диагностики, прогнозирования и профилактики протезного эндокардита: автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.00.44, 14.00.06 / Мильченко Марина Валерьевна. Новосиб., 2009. – 30 с.

12. Моисеев, В. С. Инфекционный эндокардит: клиническая характеристика и исходы (7-летний опыт лечения и наблюдения в многопрофильной городской больнице) / В. С. Моисеев, Ж. Д. Кобалава, А. С. Писарюк и др. // Кардиология. – 2018. – № 58 (12). – С. 66-75.

13. Муратов, Р. М. Влияние протеза на результаты хирургического лечения активного протезного эндокардита аортального клапана. / Р. М. Муратов, А. И. Малашенков, И. И. Скопин, и др. // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. – 2014. – № 3. – С. 43-45.

14. Писарюк, А. С. История учения об инфекционном эндокардите. / А. С. Писарюк, Е. О. Котова, Ю. Л. Караулова, и др. // Клиническая фармакология и терапия. – 2018. – № 27 (2). – С. 77-84.

15. Писарюк, А. С. Роль нарушений в системе гемостаза при инфекционном эндокардите: связь с возбудителем, биомаркеры, место антитромботической терапии (систематический обзор) / А. С. Писарюк, Е. О. Котова, Ж. Д. Кобалава и др. // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2022. – № 18 (3). – С. 328-339.

16. Писарюк, А. С. Спектр нефропатий, ассоциированных с инфекционным эндокардитом: распространенность, предикторы, прогностическое значение, калькулятор риска: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.05 / Писарюк Александра Сергеевна. – М., 2018. – 126 с.

17. Сепсис: классификация клинико-диагностическая концепция и лечение. 4-е издание, дополненное и переработанное. Под ред. Б.Р. Гельфанда. – М.: ООО «МИА-МЕД», 2017. – 408 с.

18. Скопин, И. И. Непосредственные и отдаленные результаты хирургического лечения активного инфекционного эндокардита нативных клапанов сердца у наркозависимых пациентов / И. В. Самородская, В. М. Умаров, Ш. А. Майтесян, и др. // Анналы хирургии. – 2013. – № 3. – С. 35-42.

19. Скопин, И. И. Хирургическое лечение протезного эндокардита клапанов сердца. / И. И. Скопин, В. А. Мироненко, Ш. М. Алиев // Хирургия. – 2006. – № 8. – С. 27-31.

20. Способ определения относительного количества этотически трансформированных фагоцитов / пат. № 2712179 С1 Рос. Федерация: МПК G01N 33/53, A61B 10/00 / А. С. Гурьев, Д. А. Мосальская, А. Ю. Волков; заявитель и правообладатель Общество с ограниченной ответственностью «Медтехнопарк» (ООО «Медтехнопарк») (RU) № 2019107008 заявл: 13.03.2019; опубл.: 24.01.2020, Бюл. № 3. – 13 с.

21. Сулаймонов, Х. М. Диагностика и лечебная тактика при протезном эндокардите митрального клапана. / Х. М. Сулаймонов. // Бюллетень НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН: Сердечно-сосудистые заболевания. – 2005. – № 6 (5, приложение). – С. 52.

22. Тюрин, В. П. Инфекционные эндокардиты / В. П. Тюрин, под ред. Ю. Л. Шевченко. – 2-е изд., доп. и перераб. – М.: ГЭОТАР Медиа, 2012. – 329 с.

23. Чипигина, Н. С. Инфекционный эндокардит у пожилых – сравнительный анализ клиники, течения и исходов / Н. С. Чипигина, Н. Ю Карпова, Д. А. Аничков и др. // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2020. - № 16 (2). – С. 74.

24. Шевченко, Ю. Л. Хирургия инфекционного эндокардита (40-летний опыт лечения). / Ю. Л. Шевченко // Клиническая медицина. – 2020. – № 98 (8). – С. 600-605.

25. Шевченко, Ю. Л. Хирургическое лечение инфекционного эндокардита: 35-летний опыт. / Ю. Л. Шевченко // *Анналы хирургии*. – 2016. – №21 (1-2). – С. 42-51.
26. Шевченко, Ю. Л. Инфекционный эндокардит: в 4-х т. // *Руководство по кардиологии*. – Т. 4: Заболевания сердечно-сосудистой системы (II) / Ю. Л. Шевченко, под ред. акад. Е. И. Чазова. – М.: Издательский дом «Практика». – 2014. – С. 453-495.
27. Шевченко, Ю. Л. Хирургическое лечение инфекционного эндокардита и основы гнойно-септической кардиохирургии / Ю. Л. Шевченко – М.: Династия. – 2015. – 448 с.
28. Шонбин, А. Н. Хирургическое лечение инфекционного эндокардита / А. Н. Шонбин, Д. О. Быстров, Б. О. Афонин и соавт. // *Acta Medica Eurasica*. – 2022. – №4. – С. 73-79.
29. Akinosoglou, K. Right-sided infective endocarditis: Surgical management. / K. Akinosoglou, E. Apostolakis, N. Koutsogiannis, et al. // *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. – 2012. – Vol. 42. – P. 470-479.
30. Akowuah, E. F. Prosthetic valve endocarditis: early and late outcome following medical or surgical treatment. / E. F. Akowuah, W. Davies, S. Oliver, et al. // *Heart*. – 2003. – Vol. 89 (1). – P. 269-272.
31. Al-Salih, G. Role of vegetation-associated protease activity in valve destruction in human infective endocarditis. / G. Al-Salih, N. Al-Attar, S. Delbosc, et al. // *PLoS One*. – 2012. Vol. 7 (9). – P. e45695.
32. Amat-Santos, I. J. Infective endocarditis after transcatheter aortic valve implantation: results from a large multicenter registry. / I. J. Amat-Santos, D. Messika-Zeitoun, H. Eltchaninoff, et al. // *Circulation*. – 2015. – Vol. 131 (18). – P. 1566-1574.
33. Amat-Santos, I. J. Prosthetic valve endocarditis after transcatheter valve replacement: a systematic review. / I. J. Amat-Santos, H. B. Ribeiro, M. Urena, et al. // *JACC: Cardiovascular Interventions*. – 2015. – Vol. 8 (2). – P. 334-346.
34. Ambrosioni, J. Hospital clinic infective endocarditis investigators. The changing epidemiology of infective endocarditis in the twenty-first century. / J.

Ambrosioni, M. Hernandez-Meneses, A. Téllez, et al. // *Current Infectious Disease Reports*. – 2017. – Vol. 19. – P. 1-10.

35. Anguita, P. Changes in the microbiological etiology of infective endocarditis in our region in the last 3 decades (1987-2019). / P. Anguita, J. C. Castillo, J. López-Aguilera, et al. // *Revista Española de Cardiología (English Edition)*. – 2021. – Vol. 74 (3). – P. 272-275.

36. Anton-Vazquez, V. 16S rDNA PCR for the aetiological diagnosis of culture-negative infective endocarditis. / V. Anton-Vazquez, R. Dworakowski, A. Cannata, et al. // *Infection*. – 2022. – Vol. 50 (1). – P. 243-249.

37. Armstrong, C. The diagnostic benefit of 16S rDNA PCR examination of infective endocarditis heart valves: a cohort study of 146 surgical cases confirmed by histopathology. / C. Armstrong, T. C. Kuhn, M. Dufner, et al. // *Clinical Research in Cardiology*. – 2021. – Vol. 110 (3). – P. 332-342.

38. Bates, S. Role of the *Candida albicans* MNN1 gene family in cell wall structure and virulence. / S. Bates, R. A. Hall, J. Cheetham, et al. // *BMC Research Notes*. – 2013. – Vol. 6. – P. 294.

39. Bin Abdulhak A. A. Global and regional burden of infective endocarditis, 1990-2010: a systematic review of the literature. / A. A. Bin Abdulhak, L. M. Baddour, P. J. Erwin, et al. // *Global Heart*. – 2014. – Vol. 9 (1). – P.131-143.

40. Bohbot, Y. Characteristics, management, and outcomes of patients with left-sided infective endocarditis complicated by heart failure: a substudy of the ESC-EORP EURO-ENDO (European infective endocarditis) registry. / Y. Bohbot, G. Habib, C. Laroche, et al. // *European Journal of Heart Failure*. – 2022. – Vol. 24 (7). – P. 1253-1265.

41. Bosshard, P. P. Etiologic diagnosis of infective endocarditis by broad-range polymerase chain reaction: a 3-year experience. / P. P. Bosshard, A. Kronenberg, R. Zbinden, et al. // *Clinical infectious diseases*. – 2003. – Vol. 37 (2). – P. 167-172.

42. Boudebouch, N. Blood Culture-negative endocarditis, Morocco. / N. Boudebouch, M. Sarih, A. Chakib, et al. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2017. – Vol. 23 (11). – P. 1908-1909.

43. Brill, A. von Willebrand factor-mediated platelet adhesion is critical for deep vein thrombosis in mouse models. / A. Brill, T. A. Fuchs, A. K. Chauhan, et al. // *Blood*. – 2011. – Vol. 117 (4). – P.1400-1407.
44. Brinkmann, V. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. / V. Brinkmann, U. Reichard, C. Goosmann, et al. // *Science*. – 2004. – Vol. 5663 (303). – P. 1532-1535.
45. Cabell, C. H. Use of surgery in patients with native valve infective endocarditis: results from the International Collaboration on Endocarditis Merged Database. / C. H. Cabell, E. Abrutyn, V. G. Fowler Jr., et al. // *American Heart Journal*. – 2005. – Vol. 150 (5). – P. 1092-1098.
46. Cahill, T. J. Infective endocarditis. / T. J. Cahill, B. D. Prendergast. // *Lancet*. – 2016. – 387 (10021). – P. 882-893.
47. Cahill, T. J. Infective endocarditis. / T. J. Cahill, B.D. Prendergast // *Lancet*. – 2016. – Vol. 387 (10021). – P. 882-893.
48. Casalta, J. P. Evaluation of the LightCycler SeptiFast test in the rapid etiologic diagnostic of infectious endocarditis. / J. P. Casalta, F. Gouriet, V. Roux, et al. // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. – 2009. – Vol. 28 (6). – P. 569-573.
49. Charlson, M. E. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. / M. E. Charlson, P. Pompei, K. L. Ales, et al. // *Journal of Chronic Diseases*. – 1987. – Vol. 40 (5). – P. 373-383.
50. Cheng, J. Detection of pathogens from resected heart valves of patients with infective endocarditis by next-generation sequencing. / J. Cheng, H. Hu, W. Fang, et al. // *International Journal of Infectious Diseases*. – 2019. – Vol. 83. – P. 148-153.
51. Cheng, J. Identification of pathogens in culture-negative infective endocarditis cases by metagenomic analysis. / J. Cheng, H. Hu, Y. Kang, et al. // *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. – 2018. – Vol. 17 (1). – P. 43.
52. Cresti, A. Frequency and Clinical Significance of Right Atrial Embryonic Remnants Involvement in Infective Endocarditis. / A. Cresti, P. Baratta, F. De Sensi, et al. // *The Journal of Heart Valve Disease*. – 2017. – Vol. 26 (6). – P. 700-707.

53. De Kerchove, L. Extending the scope of mitral valve repair in active endocarditis. / L. De Kerchove, J. Price, S. Tamer, et al. // *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. – 2012. – Vol. 143. – P. 91-95.
54. de Kerchove, L. Reconstructive surgery in active mitral valve endocarditis: feasibility, safety and durability / L. Kerchove, J. L. Vanoverschelde, A. Poncelet, et al. // *European journal of cardio-thoracic surgery*. – 2007. – Vol. 4 (31). – P. 592–599.
55. DiMaio, J. M. Ethical obligation of surgeons to noncompliant patients: can a surgeon refuse to operate on an intravenous drug-abusing patient with recurrent aortic valve prosthesis infection? / J. M. DiMaio, T. A. Salerno, R. Bernstein, et al. // *The Annals of Thoracic Surgery*. – 2009. – Vol. 88 (1). – P. 1-8.
56. Du, N. Clinical characteristics and outcome of Brucella endocarditis. / N. Du, F. Wang. // *Turkish Journal of Medical Sciences*. – 2016. – Vol. 46 (6). – P. 1729-1733.
57. Edouard, S. Bartonella, a common cause of endocarditis: a report on 106 cases and review. / S. Edouard, C. Nabet, H. Lepidi, et al. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2015. – Vol. 53 (3). – P. 824-829.
58. Ekaney, M. L. Impact of plasma histones in human sepsis and their contribution to cellular injury and inflammation. / M. L. Ekaney, G. P. Otto, M. Sossdorf, et al. // *Critical Care*. – 2014. – Vol. 18 (5). – P. 543.
59. El-Kholy, A. Impact of serology and molecular methods on improving the microbiologic diagnosis of infective endocarditis in Egypt. / A. El-Kholy, N. Gamal El-din El-Rachidi, M. El-Enany, et al. // *Infection*. – 2015. – Vol. 43 (5). – P. 523-529.
60. Escolà-Vergé, L. Secular trends in the epidemiology and clinical characteristics of *Enterococcus faecalis* infective endocarditis at a referral center (2007–2018). / L. Escolà-Vergé, N. Fernández-Hidalgo, M. N. Larrosa, et al. // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. – 2021. – Vol. 40 (6). – P. 1137-1148.
61. Evans, L. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. / L. Evans, A. Rhodes, W. Alhazzani, et al. // *Intensive care medicine*. – 2021. – Vol. 47 (11). – P. 1181-1247.

62. Fournier, P. E. Blood culture-negative endocarditis: Improving the diagnostic yield using new diagnostic tools. / P. E. Fournier, F. Gouriet, J. P. Casalta, et al // *Medicine (Baltimore)*. – 2017. – Vol. 96 (47). – P. e8392.
63. Fournier, P. E. Comprehensive diagnostic strategy for blood culture-negative endocarditis: A prospective study of 819 new cases. / P. E. Fournier, F. Thuny, H. Richet, et al. // *Clinical Infectious Diseases*. – 2010. – Vol. 51 (2). P. 131-140.
64. Fuchs, T. A. Extracellular DNA traps promote thrombosis. / T. A. Fuchs, A. Brill, D. Duerschmied, et al // *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*. – 2010. – Vol. 107 (36). – P. 15880-15885.
65. Funchal, G. A. Respiratory syncytial virus fusion protein promotes TLR-4-dependent neutrophil extracellular trap formation by human neutrophils. / G. A. Funchal, N. Jaeger, R. S. Czepielewski, et al // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10 (4). – P. e0124082.
66. Garcia-Romo, G. S. Netting neutrophils are major inducers of type I IFN production in pediatric systemic lupus erythematosus. / G. S. Garcia-Romo, S. Caielli, B. Vega, et al. // *Science Translational Medicine*. – 2011. – Vol. 3 (73). – P. 73ra20.
67. Gauduchon, V. Molecular diagnosis of infective endocarditis by PCR amplification and direct sequencing of DNA from valve tissue. / V. Gauduchon, L. Chalabreysse, J. Etienne, et al. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2003. – Vol. 41 (2). – P. 763-766.
68. Giannitsioti, E. Evolution of epidemiological characteristics of infective endocarditis in Greece. / E. Giannitsioti, A. Pefanis, C. Gogos, et al. // *International Journal of Infectious Diseases*. – 2021. – Vol. 106. – P. 213-220.
69. Gisler, V. Duration of pre-operative antibiotic treatment and culture results in patients with infective endocarditis. / V. Gisler, S. Dürr, I. Irincheeva, et al // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2020. – Vol. 76 (1). – P. 31-40.
70. Greub, G. Diagnosis of infectious endocarditis in patients undergoing valve surgery. / G. Greub, H. Lepidi, C. Röver, et al. // *American Journal of Medicine*. – 2005. – Vol. 118 (3). – P. 230-238.
71. Guiducci, C. Autoimmune skin inflammation is dependent on plasmacytoid dendritic cell activation by nucleic acids via TLR7 and TLR9. / C. Guiducci, C. Tripodo,

M. Gong, et al. // *The Journal of Experimental Medicine*. – 2010. – Vol. 207 (13). – P. 2931-2942.

72. Habib, G. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis: The task force for the management of infective endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by: European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM). / G. Habib, P. Lancellotti, M. J. Antunes, et al. // *European Heart Journal*. – 2015. – Vol. 36 (44). – P. 3075-3128.

73. Habib, G. Clinical presentation, aetiology and outcome of infective endocarditis. Results of the ESC-EORP EURO-ENDO (European infective endocarditis) registry: a prospective cohort study. / G. Habib, P. A. Erba, B. Iung, et al. // *European Heart Journal*. – 2019. – Vol. 39 (40). – P. 3222-3232.

74. Habib, G. Infective endocarditis in injection drug users: A recurrent disease. / G. Habib, F. Gouriet, J. P. Casalta // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2019. – Vol. 73 (5). – P. 571-572.

75. Halavaara, M. Impact of pre-operative antimicrobial treatment on microbiological findings from endocardial specimens in infective endocarditis. / M. Halavaara, T. Martelius, A. Järvinen, et al. // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. – 2019. – Vol. 38 (3). – P. 497-503.

76. Harris, K. Service evaluation to establish the sensitivity, specificity and additional value of broad-range 16S rDNA PCR for the diagnosis of infective endocarditis from resected endocardial material in patients from eight UK and Ireland hospitals. / K. Harris, T. Yam, S. Jalili, et al. // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. – 2014. – Vol. 33. – P. 2061-2066.

77. Hartman, L. Opiate Injection-associated infective endocarditis in the Southeastern United States. / L. Hartman, E. Barnes, L. Bachmann, et al. // *The American Journal of the Medical Sciences*. – 2016. – Vol. 352 (6). – P. 603-608.

78. Hashiba, M. Neutrophil extracellular traps in patients with sepsis. / M. Hashiba, A. Huq, A. Tomino, et al. // *Journal of surgical research*. – 2015. – Vol. 194 (1). – P. 248-254.

79. Hirschfeld, J. Neutrophil extracellular trap formation in supragingival biofilms. / J. Hirschfeld, H. Dommisch, P. Skora, et al. // *International Journal of Medical Microbiology*. – 2015. – Vol. 305 (4-5). – P. 453-463.
80. Huang, G. Repeat infective endocarditis in persons who inject drugs: "Take another little piece of my heart". / G. Huang, E. W. Barnes, J. E. Peacock Jr. // *Open Forum Infectious Diseases*. – 2018. – Vol. 5 (12). – P. ofy304.
81. Huang, H. Damage-associated molecular pattern-activated neutrophil extracellular trap exacerbates sterile inflammatory liver injury / H. Huang, S. Tohme, A. B. Al-Khafaji, et al. // *Hepatology*. – 2015. – Vol. 62 (2). – P. 600-614.
82. Huggins, J. P. Candida infective endocarditis: A retrospective study of patient characteristics and risk factors for death in 703 United States cases, 2015-2019 / J. P. Huggins, S. Hohmann, M. Z. David. // *Open Forum Infectious Diseases*. – 2020. – Vol. 8 (2) – P. ofaa628.
83. Hull, S. C. When is enough enough? The dilemma of valve replacement in a recidivist intravenous drug user. / S. C. Hull, F. Jadbabaie. // *The Annals of Thoracic Surgery*. – 2014. – Vol. 97 (5). – P. 1486-1487.
84. Iba, T. Sepsis-induced Coagulopathy and Disseminated Intravascular Coagulation. / T. Iba, J. H. Levy. // *Anesthesiology*. – 2020. – Vol. 132 (5). – P. 1238-1245.
85. Jiao, Y. Platelet-derived exosomes promote neutrophil extracellular trap formation during septic shock. / Y. Jiao, W. Li, W. Wang, et al. // *Critical Care*. – 2020. – Vol. 24 (1). – P. 380.
86. Jiménez-Alcázar, M. Impaired DNase1-mediated degradation of neutrophil extracellular traps is associated with acute thrombotic microangiopathies. / M. Jiménez-Alcázar, M. Napirei, R. Panda // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2015. – Vol. 13 (5). – P. 732-742.
87. Jung, C. J. Endocarditis pathogen promotes vegetation formation by inducing intravascular neutrophil extracellular traps through activated platelets. / C. J. Jung, C. Y. Yeh, R. B. Hsu, et al. // *Circulation*. – 2015. – Vol 131 (6). – P. 571-581.
88. Kaiser, S. P. Long-term outcomes in valve replacement surgery for infective

endocarditis. / S. P. Kaiser, S. J. Melby, A. Zierer, et al. // *The Annals of Thoracic Surgery*. – 2007. – Vol. 83 (1). – P. 30-35.

89. Khan, I. Evolving mortality rates in people who inject drugs: An Australian tertiary hospital observational study on infective endocarditis. / I. Khan, E. Brookes, J. Santamaria, et al. // *PLoS One*. – 2022. – Vol. 17 (8). – P. e0270283.

90. Khandpur, R. NETs are a source of citrullinated autoantigens and stimulate inflammatory responses in rheumatoid arthritis. / R. Khandpur, C. Carmona-Rivera, A. Vivekanandan-Giri, et al. // *Science Translational Medicine*. – 2013. – Vol. 5 (178). – P. 178ra40.

91. Kiefer, T. Association between valvular surgery and mortality among patients with infective endocarditis complicated by heart failure/ T. Kiefer, L. Park, C. Tribouilloy, et al. // *JAMA*. – 2011. – Vol. 20 (306). – P. 2239-2247.

92. Kim, M. S. Utility of a direct 16S rDNA PCR and sequencing for etiological diagnosis of infective endocarditis. / M. S. Kim, J. Chang, M. N. Kim, et al. // *Annals of Laboratory Medicine*. – 2017. – Vol. 37 (6). – P. 505-510.

93. Knight, J. S. Peptidylarginine deiminase inhibition reduces vascular damage and modulates innate immune responses in murine models of atherosclerosis. / J. S. Knight, W. Luo, A. A. O'Dell // *Circulation Research*. – 2014. – Vol. 114 (6). – P. 947-956.

94. Korber, F. SeptiFast versus blood culture in clinical routine – A report on 3 years experience. / F. Korber, I. Zeller, M. Grünstäudl, et al. // *Wiener klinische Wochenschrift*. – 2017. – Vol. 129 (11– 12). – P. 427-434.

95. Kotilainen, P. Aetiological diagnosis of infective endocarditis by direct amplification of rRNA genes from surgically removed valve tissue. An 11-year experience in a Finnish teaching hospital. / P. Kotilainen, M. Heiro, J. Jalava, et al. // *Annals of Medicine*. – 2006. – Vol. 38 (4). – P. 263-73.

96. Kühn, C. Evaluation of commercial universal rRNA gene PCR plus sequencing tests for identification of bacteria and fungi associated with infectious endocarditis. / C. Kühn, C. Disqué, H. Mühl, et al. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2011. – Vol. 49 (8). – P. 2919-2923.

97. Lamas, C. C. Diagnosis of blood culture-negative endocarditis and clinical comparison between blood culture-negative and blood culture-positive cases. / Lamas C. C., P. E. Fournier, M. Zappa, et al. // *Infection*. – 2016. – Vol. 44 (4). – P 459-466.
98. Lamy, B. How to: accreditation of blood cultures' proceedings. A clinical microbiology approach for adding value to patient care. / B. Lamy, A. Ferroni, C. Henning, et al. // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2018. – Vol. 24 (9). – P. 956-963.
99. Lande, R. Neutrophils activate plasmacytoid dendritic cells by releasing self-DNA-peptide complexes in systemic lupus erythematosus. / R. Lande, D. Ganguly, V. Facchinetti, et al. // *Science Translational Medicine*. – 2011. – Vol. 3 (73). – P. 73ra19.
100. Lang, S. Evaluation of PCR in the molecular diagnosis of endocarditis. / S. Lang, R. W. Watkin, P. A. Lambert, et al. // *Journal of Infection*. – 2004. – Vol. 48 (3). – P. 269-275.
101. Lepidi, H. Cardiac valves in patients with Q fever endocarditis: microbiological, molecular, and histologic studies. / H. Lepidi, P. Houpijian, Z. Liang, et al. // *The Journal of infectious diseases*. – 2003. – Vol. 187 (7). – P. 1097-1106.
102. Li, R. H. L. A comparative review of neutrophil extracellular traps in sepsis. / R. H. L. Li, F. Tablin // *Frontiers in Veterinary Science*. – 2018. – Vol. 5. – P. 291.
103. Liesenborghs, L. Coagulation: At the heart of infective endocarditis. / L. Liesenborghs, S. Meyers, T. Vanassche, et al. // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2020. – Vol. 18 (5). – P. 995-1008.
104. Liesman, R. M. Laboratory diagnosis of infective endocarditis. / R. M. Liesman, B. S. Pritt, J. J. Maleszewski, et al. // *Journal of clinical microbiology*. – 2017. – Vol. 55 (9). – P. 2599-2608.
105. Loh, P. H. Infective endocarditis following transcatheter aortic valve replacement: Diagnostic and management challenges. / P. H. Loh, H. Bundgaard, L. Sondergaard // *Catheterization and Cardiovascular Interventions*. – 2013. – Vol. 81 (4). – P. 623–627.
106. Lopes, S. Allograft aortic root replacement in complex prosthetic endocarditis. / S. Lopes, P. Calvino, F. de Oliveira, et al. // *European journal of cardio-*

thoracic surgery. – 2007. – Vol. 1 (32). – P. 126-130.

107. Małek-Elikowska, M. Microbiological diagnostics of infective endocarditis in the light of the new guidelines of the European Society of Cardiology with particular focus on the molecular methods. / M. Małek-Elikowska, W. Elikowski, M. Lisiecka, et al. // *Przegląd Lekarski*. – 2016. – Vol. 73 (7). – P. 525-529.

108. Maneg, D. Advantages and limitations of direct PCR amplification of bacterial 16S-rDNA from resected heart tissue or swabs followed by direct sequencing for diagnosing infective endocarditis: a retrospective analysis in the routine clinical setting. / D. Maneg, J. Sponsel, I. Muller, et al. // *BioMed Research International*. – 2016. – Vol. 19. – P. 1-10.

109. Mangner, N. Incidence, Predictors, and Outcome of Patients Developing Infective Endocarditis Following Transfemoral Transcatheter Aortic Valve Replacement. / N. Mangner, F. Woitek, S. Haussig, et al. // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2016. – Vol. 67 (24). – P. 2907-2908.

110. Mansur, A. J. Relapses, recurrences, valve replacements, and mortality during the long-term follow-up after infective endocarditis. / A. J. Mansur, C. M. Dal Bo, J. T. Fukuchima, et al. // *American heart journal*. 2001. – Vol. 141 (1). – P. 78-85.

111. Martinod, K. Neutrophil histone modification by peptidylarginine deiminase 4 is critical for deep vein thrombosis in mice. / K. Martinod, M. Demers, T. A. Fuchs, et al. // *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. – 2013. – Vol. 110 (21). – P. 8674-8679.

112. Massberg, S. Reciprocal coupling of coagulation and innate immunity via neutrophil serine proteases. / S. Massberg, L. Grahl, M. L. von Bruehl, et al. // *Nature Medicine*. – 2010. – Vol. 16 (8). – P. 887-896.

113. McGee, M. *Tropheryma whipplei* Endocarditis: Case Presentation and Review of the Literature. / M. McGee, S. Briennesse, B. Chong, et al. // *InOpen forum infectious diseases*. – 2018. – Vol. 6 (1). – P. ofy330.

114. Mekontso Dessap, A. Influence of preoperative antibiotherapy on valve culture results and outcome of endocarditis requiring surgery. / A. Mekontso Dessap, J. R. Zahar, G. Voiriot, et al. // *Journal of Infection*. – 2009. – Vol. 59 (1). – P. 42-48.

115. Meyers, S. Staphylococcus aureus and Neutrophil Extracellular Traps: The Master Manipulator Meets Its Match in Immuno-thrombosis. / S. Meyers, M. Crescente, P. Verhamme, et al. // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2022. – Vol. 42 (3). – P. 261-276.
116. Miljeteig, I. Should patients who use illicit drugs be offered a second heart-valve replacement? / I. Miljeteig, S. Skrede, J. Langorgen, et al. // *Tidsskrift for Den Norske Legeforening*. – 2013. – Vol. 133 (9). – P. 977-980.
117. Miller, R. J. Development and evaluation of a novel fast broad-range 16S ribosomal DNA PCR and sequencing assay for diagnosis of bacterial infective endocarditis: multi-year experience in a large Canadian healthcare zone and a literature review. / R. J. Miller, B. Chow, D. Pillai, et al. // *BMC Infectious Diseases*. – 2016. – Vol. 16. – P. 146.
118. Miró, J. M. Infective endocarditis and cardiac surgery in intravenous drug abusers and HIV-1 infected patients. / J. M. Miró, A. del Río, Mestres C. A. // *Cardiology Clinics*. – 2003. – Vol. 21 (2). – P. 167-184, v-vi.
119. Miró, J. M. Infective endocarditis in intravenous drug abusers and HIV-1 infected patients. / J. M. Miró, A. del Río, C. A. Mestres // *Infectious Disease Clinics*. – 2002. – Vol. 16 (2). – P. 273-295.
120. Mócsai, A. Diverse novel functions of neutrophils in immunity, inflammation, and beyond. / A. Mócsai // *Journal of Experimental Medicine*. – 2013. – Vol. 210 (7). – P. 1283-1299.
121. Moreillon, P. Infective endocarditis. / P. Moreillon, Y. A. Que, et al. // *Lancet*. – 2004. – Vol. 363 (9403). – P. 139-149.
122. Morris, A. J. Gram stain, culture, and histopathological examination findings for heart valves removed because of infective endocarditis. / A. J. Morris, D. Drinkovic, S. Pottumarthy, et al. // *Clinical Infectious Diseases*. – 2003. – Vol. 36 (6). P. 697-704.
123. Moss, R. Injection drug use and right sided endocarditis. / R. Moss, B. Munt // *Heart*. – 2003. – Vol. 89. – P. 577-581.
124. Muñoz, P. Heart valves should not be routinely cultured. / P Muñoz, E. Bouza, M. Marín, et al. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2008. – Vol. 46 (9). – P.

2897-2901.

125. Murashita, T. Advanced Concepts in Endocarditis / T. Murashita // Surgical Treatment for Tricuspid Valve Infective Endocarditis. – IntechOpen, 2018. – P. 103-114.

126. Murdoch, D. R. Clinical presentation, etiology, and outcome of infective endocarditis in the 21st century: The International Collaboration on Endocarditis-Prospective Cohort Study. / D. R. Murdoch, G.R. Corey, B. Hoen, et al. // Archives of Internal Medicine. – 2009. – Vol. 169 (5). – P. 463-473.

127. Musci, M. Homograft aortic root replacement in native or prosthetic active infective endocarditis: Twenty-year single-center experience / M. Musci, Y. Weng, M. Hübler, et al. // The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. – 2010. – Vol. 3 (139). – P. 665-673.

128. Narasaraju, T. Excessive neutrophils and neutrophil extracellular traps contribute to acute lung injury of influenza pneumonitis. / T. Narasaraju, E. Yang, R. P. Samy, et al. // The American Journal of Pathology. – 2011. – Vol. 179 (1). – P. 199-210.

129. Nashef, S. A. EuroSCORE II. / S. A. Nashef, F. Roques, L. D. Sharples, et al // European Journal of Cardiothoracic Surgery. – 2012. – Vol. 41 (4). – P. 734-744; discussion P. 744-745.

130. Nishimura, R. A. 2017 AHA/ACC Focused Update of the 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients with Valvular Heart Disease. / R. A. Nishimura, C. M. Otto, R. O. Bonow, et al. // Journal of the American College of Cardiology. – 2017. – Vol. 70 (2). – P. 252-289.

131. Nishimura, R. AHA/ACC focused update of the 2017 AHA/ACC Guideline for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. / R. Nishimura, C. Otto, R. Bonow, et al. // Circulation. – 2017. – Vol. 135 (25). – P. e1159-1195.

132. Olsen, N. T. Prosthetic valve endocarditis after transcatheter aortic valve implantation. / N. T. Olsen, O. De Backer, H. G. H. Thyregod, et al. // Circulation: Cardiovascular Interventions. – 2015. – Vol. 8 (4). – P. e001939

133. Papayannopoulos, V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease.

/ V. Papayannopoulos //Nature Reviews Immunology. – 2018. – Vol. 18 (2). – P. 134-147.

134. Park, L. P. Validated Risk Score for Predicting 6-Month Mortality in Infective Endocarditis. / L. P. Park, V. H. Chu, G. Peterson, et al. // Journal of the American Heart Association. – 2016. – Vol. 5 (4). – P. e003016.

135. Pasha, A. K. Fungal endocarditis: Update on diagnosis and management. / A. K. Pasha, J. Z. Lee, S. W. Low, et al. // The American Journal of Medicine. – 2016. – Vol. 129 (10). – P. 1037-1043.

136. Patel, J. M. Sepsis induces a dysregulated neutrophil phenotype that is associated with increased mortality. / J. M. Patel, E. Sapey, D. Parekh, et al. // Mediators of Inflammation. – 2018. – P. 4065362.

137. Peeters, B. Added diagnostic value and impact on antimicrobial therapy of 16S rRNA PCR and amplicon sequencing on resected heart valves in infective endocarditis: a prospective cohort study. / B. Peeters, P. Herijgers, K. Beuselinck, et al. // Clinical Microbiology and Infection. – 2017. – Vol. 23 (11). – P. 888.e1-888.e5.

138. Pettersson, G. B. 2016 The American Association for Thoracic Surgery (AATS) consensus guidelines: Surgical treatment of infective endocarditis: Executive summary / G. B. Pettersson, B. Gösta, S. Joseph Coselli, et al. // Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. – 2017. – Vol. 6 (153). – P. 1241-1258.e29.

139. Pfaffl, M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. / M. W. Pfaffl. // Nucleic acids research. – 2001. – Vol. 29 (9). – P. e45.

140. Pillai, P. S. Mx1 reveals innate pathways to antiviral resistance and lethal influenza disease. / P. S. Pillai, R. D. Molony, K. Martinod, et al. // Science. – 2016. – Vol. 352 (6284). – P. 463-466.

141. Pilsczek, F. H. A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap formation in response to *Staphylococcus aureus*. / F. H. Pilsczek, D. Salina, K. K. Poon, et al. // Journal Immunology. – 2010. – Vol. 185 (12). – P. 7413-7425.

142. Rabkin, D. G. Long-term outcome for the surgical treatment of infective endocarditis with a focus on intravenous drug users. / D. G. Rabkin, N. A. Mokadam, D. W. Miller, et al // The Annals of Thoracic Surgery. – 2012. Vol. 93. – P. 51-57.

143. Rantakokko-Jalava, K. Direct amplification of rRNA genes in diagnosis of bacterial infections. / K. Rantakokko-Jalava, S. Nikkari, J. Jalava, et al. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2000. – Vol. 38 (1). – P. 32-39.
144. Raoult, D. Contribution of systematic serological testing in diagnosis of infective endocarditis. / D. Raoult, J. P. Casalta, H. Richet, et al. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2005. – Vol. 43 (10). – P. 5238-5242.
145. Raza, M. A. Brucella Endocarditis of the Native Mitral Valve Treated With Antibiotics. / M. A. Raza, K. Ejaz, D. Kazmierski. // *Cureus*. – 2020. – Vol. 12 (5). – P. e8167.
146. Regueiro, A. Association between transcatheter aortic valve replacement and subsequent infective endocarditis and in-hospital death. / A. Regueiro, A. Linke, A. Latib, et al. // *JAMA*. – 2016. – Vol. 316 (10). – P. 1083.
147. Ronan, M. V. Hospitalizations Related to Opioid Abuse/Dependence and Associated Serious Infections Increased Sharply, 2002-12. / M. V. Ronan, S. J. Herzig. // *Health Affairs (Millwood)*. – 2016. – Vol. 35 (5). – P. 832-837.
148. Röver, C. PCR detection of bacteria on cardiac valves of patients with treated bacterial endocarditis. / C. Röver, G. Greub, H. Lepidi, et al. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2005. – Vol. 43 (1). – P. 163-167.
149. Saitoh, T. Neutrophil extracellular traps mediate a host defense response to human immunodeficiency virus-1. / T. Saitoh, J. Komano, Y. Saitoh, et al. // *Cell Host & Microbe*. – 2012. – Vol. 12 (1). – P. 109-116.
150. Schauer, C. Aggregated neutrophil extracellular traps limit inflammation by degrading cytokines and chemokines. / C. Schauer, C. Janko, L. E. Munoz, et al. // *Nature Medicine*. – 2014. – Vol. 20 (5). – P. 511-517.
151. Schranz, A. J. Trends in Drug Use-Associated Infective Endocarditis and Heart Valve Surgery, 2007 to 2017: A Study of Statewide Discharge Data. / A. J. Schranz, A. Fleischauer, V. H. Chu, et al. // *Annals of Internal Medicine*. – 2019. – Vol. 170 (1). – P. 31-40.
152. Selton-Suty, C. Preeminence of *Staphylococcus aureus* in infective endocarditis: a 1-year population-based survey / C. Selton-Suty, M. Célard, V. Le Moing,

et al. // *Clinical infectious diseases*. – 2012. – Vol. 54 (9). – P. 1230-1239.

153. Sheikh, A. M. Outcomes of surgical intervention for isolated active mitral valve endocarditis. / A. M. Sheikh, A. M. Elhenawy, M. Maganti, et al. // *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. – 2009. – Vol. 137. – P. 110-116.

154. Shrestha, N. K. Injection Drug Use and Outcomes After Surgical Intervention for Infective Endocarditis. / N. K. Shrestha, J. Jue, S. T. Hussain, et al. // *The Annals of Thoracic Surgery* – 2015. – Vol. 100 (3). – P. 875-882.

155. Singer, M. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). / M. Singer, C. S. Deutschman, C. W. Seymour, et al. // *JAMA*. – 2016. – Vol. 315 (8). – P. 801-810.

156. Slabbekoorn, M. Left-sided native valve *Staphylococcus aureus* endocarditis. / M. Slabbekoorn, H. M. Horlings, J. T. van der Meer, et al. // *The Netherlands Journal of Medicine*. – 2010. – Vol. 68 (11). – P. 341-347.

157. Slipczuk, L. Infective endocarditis epidemiology over five decades: a systematic review. / L. Slipczuk, J. N. Codolosa, C. D. Davila, et al. // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8 (12). – P. e82665.

158. Smith, C. R. Transcatheter versus surgical aortic-valve replacement in high-risk patients. / C. R. Smith, M. B. Leon, M. J. Mack, et al. // *New England Journal of Medicine*. – 2011. – Vol. 364 (23). – P. 2187-2198.

159. Straw, S. Long-term Outcomes Are Poor in Intravenous Drug Users Following Infective Endocarditis, Even After Surgery. / S. Straw, M. W. Baig, R. Gillott, et al. // *Clinical Infectious Diseases*. – 2020. – Vol. 71 (3). – P. 564-571.

160. Sun, S. Neutrophil extracellular traps impair intestinal barrier functions in sepsis by regulating TLR9-mediated endoplasmic reticulum stress pathway. / S. Sun, Z. Duan, X. Wang, et al. // *Cell Death & Disease*. – 2021. – Vol. 12 (6). – P. 606.

161. Tattevin, P. Fungal endocarditis: current challenges. / P. Tattevin, M. Revest, A. Lefort, et al. // *International Journal of Antimicrobial Agents*. – 2014. – Vol. 44 (4). – P. 290-294.

162. Thomas, M. One-year outcomes of cohort 1 in the Edwards SAPIEN Aortic Bioprosthesis European Outcome (SOURCE) registry: the European registry of

transcatheter aortic valve implantation using the Edwards SAPIEN valve. / M. Thomas, G. Schymik, T. Walther, et al. // *Circulation*. – 2011. – Vol. 124 (4). – P. 425-433.

163. Thuny, F. Management of infective endocarditis: challenges and perspectives / F. Thuny, D. Grisoli, F. Collart, et al. // *Lancet*. – 2012. – Vol. 379 (9819) – P. 965-975.

164. Thuny, F. The timing of surgery influences mortality and morbidity in adults with severe complicated infective endocarditis: a propensity analysis. / F. Thuny, S. Beurtheret, J. Mancini, et al. // *European Heart Journal*. – 2011. – Vol. 32 (16). – P. 2027-2033.

165. Topan, A. Assesment of the Duke criteria for the diagnosis of infective endocarditis after twenty-years. An analysis of 241 cases. / A. Topan, D. Carstina, A. Slavcovici, et al. // *Clujul Medical*. – 2015. – Vol. 88 (3). – P. 321-326.

166. Toyoda, N. Trends in infective endocarditis in California and New York State, 1998-2013. / N. Toyoda, J. Chikwe, S. Itagaki // *JAMA*. – 2017. – Vol. 317 (16). – P. 1652-1660.

167. Urban, C. F. Neutrophil extracellular traps capture and kill *Candida albicans* yeast and hyphal forms. / C. F. Urban, U. Reichard, V. Brinkmann, et al. // *Cellular Microbiology*. – 2006. – Vol. 8 (4). – P. 668-676.

168. Vandesompele, J. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. / J. Vandesompele, K. De Preter, F. Pattyn, et al // *Genome biology*. – 2002. – Vol. 3 (7). – P. RESEARCH0034.

169. Vilacosta, I. Risk of embolization after institution of antibiotic therapy for infective endocarditis. / I. Vilacosta, C. Grapner, J. A. San Roman, et al. // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2002. – Vol. 39 (4). – P. 1489-1495.

170. Voigt, A. Rising rates of cardiac rhythm management device infections in the United States: 1996 through 2003. / A. Voigt, A. Shalaby, S. Saba // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2006. – Vol. 48 (3). – P. 590-591.

171. Voldstedlund, M. Broad-range PCR and sequencing in routine diagnosis of infective endocarditis. / M. Voldstedlund, L. Norum Pedersen, U. Baandrup, et al. // *Apmis*. – 2008. – Vol. 116 (3) – P. 190-198.

172. Vollmer, T. 23S rDNA real-time polymerase chain reaction of heart valves: a decisive tool in the diagnosis of infective endocarditis. / T. Vollmer, C. Piper, D. Horstkotte, et al. // *European Heart Journal*. – 2010. – Vol. 31 (9). – P. 1105-1113.
173. Wurcel, A. G. Increasing Infectious Endocarditis Admissions Among Young People Who Inject Drugs. / A. G. Wurcel, J. E. Anderson, K. K. Chui, et al. // *Open Forum Infectious Diseases*. – 2016 – Vol. 3 (3). – P. ofw157.
174. Yang, S. Neutrophil extracellular traps promote hypercoagulability in patients with sepsis. / S. Yang, H. Qi, K. Kan, et al. // *Shock: Injury, Inflammation, and Sepsis: Laboratory and Clinical Approaches*. – 2017. – Vol. 47 (2). – P. 132-139.
175. Yew, H. Sen. Global Trends in Infective Endocarditis Epidemiology/ H. Sen Yew, D. R. Murdoch // *Current Infectious Disease Reports*. – 2012. – Vol. 14 (4). – P. 367-372.
176. Yipp, B. G. Infection-induced NETosis is a dynamic process involving neutrophil multitasking in vivo. / B. G. Yipp, B. Petri, D. Salina, et al. // *Nat Med*. – 2012. – Vol. 18 (9). – P. 1386-1393.
177. Yucel, E. Diagnosis and Management of Infective Endocarditis in People Who Inject Drugs: JACC State-of-the-Art Review. / E. Yucel, B. Bearnot, M. L. Paras, et al. // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2022. – Vol. 79 (20). – P. 2037-2057.
178. Zeaiter, Z. Diagnosis of Bartonella endocarditis by a real-time nested PCR assay using serum. / Z. Zeaiter, P. E. Fournier, G. Greub, et al. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2003. – Vol. 41 (3). – P. 919-925.
179. Zegdi, R. Long-term results of mitral valve repair in active endocarditis. / R. Zegdi, M. Debièche, C. Latrémouille, et al. // *Circulation*. – 2005. – Vol. 111. – P. 2532-2536.